Tome 69, nº 27 — Septembre 1962

Untersuchungen über die Wirkung der Letalfaktoren *l 52* und *l 8* von *Drosophila melanogaster*

von

Regula Dorothea Gloor

Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut
der Universität Zürich [1].

Mit 20 Textabbildungen.

INHALT

---

[1] Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. Hadorn, danke ich herzlich für die Anregung und Leitung dieser Arbeit, sowie für die Ausführung der Transplantationen.

I. EINLEITUNG

Neu auftretende Letalfaktoren können als spezifische Naturexperimente aufgefasst werden, die uns Einblicke in die entwicklungsphysiologische Bedeutung bestimmter Chromosomenloci vermitteln (Hadorn 1955). Daher ist es angezeigt, die Wirkungsmuster möglichst vieler Letalmutanten zu analysieren; auf diesem Wege sollte es gelingen, ständig sich vermehrende Informationen über den ontogenetischen Einsatz der Gene zu gewinnen.

Aus verschiedenen mit Röntgenstrahlen und Chemikalien an *Drosophila melanogaster* durchgeführten Versuchen [1] wurden 17 re-

[1] Für die Ueberlassung des Materials spreche ich Herrn Prof. Dr. F. Sobels, Leiden, meinen besten Dank aus.

cessive Letalfaktoren des X-Chromosoms weitergezüchtet, deren Letalphase im Larven- oder Puppenstadium liegt. Die vorliegende Arbeit berichtet über die Untersuchungen an zwei dieser Letalfaktoren.

Zum Verständnis der Wirkungsweise dieser Mutanten musste zunächst die genaue Letalphase festgestellt werden. Danach wurde versucht, das Inventar der sichtbaren Phäne aufzustellen, die in ihrer Gesamtheit das mehr oder weniger komplizierte pleiotrope Schädigungsmuster (Hadorn 1948) des Letalfaktors aufzeigen. Um allfällige Beziehungen zwischen morphologischen Veränderungen und abnormal verlaufenden Stoffwechselvorgängen aufzudecken, wurde schliesslich mit papierchromatographischen Methoden versucht, eventuelle biochemische Auswirkungen der Mutationen nachzuweisen.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. *Zucht.*

Die Letalfaktoren *l 8* und *l 52* wurden in einem balancierten System über einem Muller-5-Chromosom *M5* (sc^s *B* In^s w^a sc^8) auf Standardfutter bei 25° C gezüchtet. In jeder neuen Generation wurden die heterozygoten *l 8/M5* – resp. *l 52/M5* – Weibchen mit hemizygoten *M5* – Männchen aus derselben Zucht ausgekreuzt und die homozygoten *M5/M5* – Weibchen entfernt. Aus einer solchen Kreuzung gehen 50% Männchen hervor, die für den Letalfaktor hemizygot sind. Schon im zweiten Larvenstadium sind die hemizygoten *M5* – Männchen an ihren farblosen Malpighischen Gefässen von den letalen Larven mit gelben Malpighi zu unterscheiden. Der Kürze halber werden in dieser Arbeit die hemizygoten *l 8/*- und *l 52/*- Männchen als *l 8*- resp. *l 52*-Larven bezeichnet. Die für die verschiedenen Untersuchungen benötigten Tiere bestimmten Alters stammen aus Gelegen, die während 2 Stunden (h) von 20—25 Weibchen abgelegt wurden. Bei der Verwendung dieser 2 h-Gelege schwankt das Alter der Larven, von der Eiablage an gerechnet, nicht mehr als um ± 1 h. Da die letalen Larven des *l 8*-Stammes ziemlich lange überleben, wurden die 120 h alten Tiere in neue Schalen umgesetzt; dadurch sollten störende Einflüsse des nicht mehr frischen Futters vermieden werden.

2. *Messungen.*

Die einzelnen in physiologischer Lösung aus den Larven herauspräparierten Organe wurden mit einem Okularmikrometer gemessen. Durch die Wahl verschiedener Objektivvergrösserungen konnte die Messgenauigkeit der Objektgrösse angepasst werden. Für die Berechnung der

Körperlänge und Breite narkotisierte ich die Larven mit Aether, trocknete sie auf dem Objektträger mit Filterpapier und konnte dann unter dem Binokular die grösste Länge und Breite bestimmen. Für die Untersuchungen der Speicheldrüsenkerne wurden die herauspräparierten Drüsen in 10% Formol fixiert und mit Feulgen gefärbt.

3. *Histologische Untersuchungen.*

Das Fixieren normaler und letaler Larven in Carnoy erfolgte je nach Grösse der Tiere während 2—5 h. Nach kurzem Anfixieren wurden die Larven vorn und hinten leicht aufgerissen, was das Eindringen der Fixierflüssigkeit erleichtert. Über Aceton und tertiären Butylalkohol wurden immer 4—5 Individuen nebeneinander in Paraffin eingebettet, 6 μ dick geschnitten und mit Haematoxylin-Eosin gefärbt. Die Hämolymphe-Ausstriche färbte ich mit May-Grünwald Giemsa nach Pappenheim.

4. *Chromatographie der freien Eiweissbausteine.*

Für die qualitative und quantitative Untersuchung der freien Aminosäuren und Peptide wurden je 3 Larven für eindimensionale, bzw. 15 für zweidimensionale Chromatogramme den Futterschalen entnommen, in dest. Wasser gewaschen, auf Filterpapier getrocknet und darauf in einem Glasröhrchen homogenisiert. Das Abtrennen der Körpereiweisse erfolgte durch Extrahieren mit 10 resp. 40 mm^3 80% Methanol und nachfolgendes Zentrifugieren. Die überstehende Flüssigkeit wurde auf Whatman I — Filterpapier (28×46 cm) übertragen. Dabei zeigte es sich, dass auf den eindimensionalen Chromatogrammen die Trennung der einzelnen Stoffe wesentlich besser ist, wenn das Filterpapier vorher während mindestens 24 h absteigend mit 3% NH_3 — Wasser gewaschen wird. Für die Chromatographie-Methoden waren folgende Arbeiten wegweisend: Boissonnas (1950), Hadorn und Mitchell (1951), Brush und Mitarbeiter (1951), Auclair und Dubreuil (1953), Chen und Hadorn (1954), Stumm-Zollinger (1954), Benz (1955) und Faulhaber (1959). Die eindimensionalen Chromatogramme entwickelte ich zweimal aufsteigend in 70% Propanol+1% NH_3, die zweidimensionalen in 70% Propanol aufsteigend in der ersten Dimension und absteigend in wassergesättigtem Phenol in der zweiten Dimension. Die getrockneten Chromatogramme wurden durch eine 0,5% Lösung von Ninhydrin in Aceton gezogen, und die blauvioletten und gelben Flecken der ninhydrinpositiven Stoffe durch Aufhängen während 10 Min. bei Zimmertemperatur und anschliessendes Erwärmen auf 60° C (30 Min.) sichtbar gemacht.

Zur quantitativen Auswertung der eindimensionalen Chromatogramme wurden die Bogen in je 3 cm breite Streifen aufgeteilt, die jeweils die Flecken einer Einzelbestimmung enthielten. Als Kontrolle diente für jedes Chromatogramm ein Blindwertstreifen der gleichen Breite. Mit einem Photovolt Densitometer (Spinco-Analytrol) konnten

die so erhaltenen Streifen direkt ausgewertet werden. Für die quantitative Bestimmung der zweidimensionalen Chromatogramme planimetrierte ich die Flächeninhalte der einzeilnen Flecken, um die Blindwertkorrektur des Chromatographiepapiers berechnen zu können. Das Eluieren der ninhydrinpositiven Stoffe erfolgte in saurer Methanol-$Cu(NO_3)_2$-Lösung (500 ml Methanol, 2 ml gesättigte, wässrige$Cu\ (NO_3)_2$-Lösung und 0,3 ml 10%-ige HNO_3). Die Flecken und eine Papierblindprobe von bekannter Fläche wurden ausgeschnitten und im Reagensglas mit je 5 ml Methanol-$Cu(NO_3)_2$-Lösung eluiert. Frühestens nach zwei Stunden konnte im Beckman-Spektrophotometer bei konstanter Wellenlänge von 510 m μ die photometrische Bestimmung der Extinktionswerte vorgenommen werden.

Zur Bestimmung der Gesamtmenge der ninhydrin-positiven Stoffe wurde je eine Larve direkt auf dem Chromatographiepapier mit einem Glasstab zerquetscht, die Chromatogramme aufsteigend in 70% Propanol entwickelt und anschliessend die Freien Aminosäuren und Peptide mit Ninhydrin sichtbar gemacht. Für die quantitative Auswertung wurden gleichgrosse Streifen, welche je die ninhydren-positiven Stoffe eines Tieres enthielten, aus dem Chromatogramm herausgeschnitten und zur Kontrolle pro Bogen ein Blindwertstreifen gleichen Flächeninhaltes untersucht. Die ninhydrin-positiven Stoffe wurden in 5 ml Methanol-Kupferlösung eluiert.

5. *Nahrungsaufnahme.*

Um die Nahrungsaufnahme der überlebenden letalen Tiere zu prüfen, wurde die Frischhefe mit Tierkohle, Neutralrot oder Lackmus vermengt und in bestimmten Zeitabständen diese Stoffe im Darm der Larven nachgewiesen.

III. DER FAKTOR *l 52*

1. Lokalisationsversuch und Genetik

Der Faktor *l 52* ist ein recessiver geschlechtsgekoppelter Letalfaktor. Zur Lokalisation wurden die Crossing-overs zwischen dem *l 52*-Chromosom und einem X-Chromosom mit den recessiven Faktoren *sc ec ct v g f* (*scut* 0,0, *echinus* 5,5, *cut* 20,0 *vermilion* 33,0, *garnet* 44,4, *forked* 56,7) bestimmt. Männchen und Weibchen wurden getrennt ausgezählt, da die Lage der X-chromosomalen Letalfaktoren in Bezug auf die Markierungsloci daran zu erkennen ist, dass nur für die zwei dem Letalfaktor benachbarten recessiven Loci beide Rekombinationstypen unter den ausgezählten Männchen gefunden werden können. Nehmen wir sum Beispiel an, der zu bestimmende Letalfaktor *l* liege zwischen *ec* und *ct*. In der F_1

der Kreuzung $sc\ ec\ +^{l}\ ct\ v\ /\ +^{sc}\ +^{ec}\ l\ +^{ct}\ +^{v}\ \times\ sc\ ec\ +^{l}\ ct\ v\ /$ — wird sich für ein Crossing-over zwischen *sc* und *ec* nur die Neukombination $+^{sc}\ ec\ +^{l}\ ct\ v$ unter den ausgezählten Männchen finden, da die komplementäre Kombination den Faktor *l* aufweist ($sc\ +^{ec}\ l\ +^{ct}\ +^{v}$) und somit letal ist. Dasselbe gilt auch für den Austausch zwischen *ct* und *v*. Nur für den Sektor *ec-ct* erhalten wir beide Möglichkeiten, da das Crossing-over sowohl rechts, wie links von *l* auftreten kann und einmal $+^{sc}\ +^{ec}$ mit $+^{l}\ ct\ v$, das andere Mal $sc\ ec\ +^{l}$ mit $+^{ct}\ +^{v}$ kombiniert.

Im Falle von *l 52* fanden sich nun aber unter den 693 ausgezählten Männchen für keinen der 6 Markierungsfaktoren beide Rekombinationen. Danach muss der Letalfaktor *l 52* sehr nahe bei einem der bekannten Loci liegen, sodass ein Crossing-over sehr selten ist, oder aber er liegt rechts von *forked* (d.h. zwischen *f* und der SFA), da nur Männchen, die das Merkmal *forked* tragen, vital sind. Ein genauer Locus kann somit für den Letalfaktor *l 52* noch nicht angegeben werden.

Tabelle 1.

Gezählte (gez) und erwartete (erw) Austauschhäufigkeiten zwischen den Loci sc, ec, ct, v, g, f *des X-chromosoms bei* sc ec ct$+^{l}$ (?) v g f /$+^{sc}$ $+$ec$+^{ct}$ *l* (?)$+^{v}$ $+^{g}$ $+^{f}$ — *Weibchen. Chr. S. Chromosomen-Sektor; erw Co erwartete Crossingover-Häufigkeit; n Co non Crossovers; N Gesamtzahl.*

Chr. S	♂			♀			♂+♀			erw Co
	gez	erw	Co in %	gez	erw	Co in %	gez	erw	Co in %	
sc/ec	38	38	5,5	124	77	8,9	162	115	7,8 ±0,59	5,5
ec/ct	153	101	22,1	315	202	22,6	468	302	22,4 ±0,91	14,5
ct/v	97	90	14,0	206	181	14,8	303	251	14,5 ±0,77	13,0
v/g	44	79	6,3	99	159	7,1	143	238	6,9 ±0,56	11,4
g/f	25	85	3,6	64	171	4,6	89	256	4,3 ±0,44	12,3
n Co	316	300	—	583	601	—	919	922	—	—
N	693	693	51,5	1391	1391	59,0	2084	2084	55,9 ±1,09	56,7

Es fällt jedoch auf, dass die beobachteten Austauschhäufigkeiten für die einzelnen Loci nicht den erwarteten Werten entsprechen, die gesamte Crossing-over-Rate für das ganze Chromosom aber nicht verändert ist. Vergleichen wir in Tab. 1 die Crossing-over-

Werte für Männchen, Weibchen und für das Total der untersuchten Fliegen mit den in der letzten Kolonne rechts angegebenen erwarteten Austauschhäufigkeiten, so sehen wir, dass für den Chromosomenabschnitt *ec-ct* viel zu viele Crossing-overs beobachtet werden. Um einen Klassifikationsfehler kann es sich dabei kaum handeln, da alle diese Tiere das Normalallel des oft nicht ganz deutlich zu erkennenden Faktors *echinus* tragen. Der Zunahme in diesem Chromosomenabschnitt steht nun aber im Bereiche von *garnet* und *forked* eine deutliche Verminderung der auftretenden Crossing-overs gegenüber. Auf eine mögliche Deutung dieser Phänomene werden wir später noch zu sprechen kommen (S. 428).

2. Beschreibung der Mutante

a) *Aeusserlich sichtbares Schädigungsmuster.*

α) *Schlüpfrate und Ueberlebensdauer.*

Die Schlüpfrate der Nachkommen aus der Kreuzung *l 52/M5* × *M5/-*, die zu 50% letale Männchen ergeben sollte, ist im Vergleich zum Wildstamm „*Sevelen*" nur leicht vermindert. Von 683 ausgezählten Eiern schlüpften bis 26 h nach der Eiablage 611 Larven, dies entspricht einer durchschnittlichen Rate von 89,5% gegenüber 96% bei einem Wild-Kontrollstamm („*Sevelen*"). Entfernt man aus 1 h-Gelegen alle 30 Min. die frisch geschlüpften Larven und zieht sie in getrennten Schalen auf, so zeigt es sich, dass die letalen *l 52*-Larven meist erst zwischen 22 und 26 h, ihre normalen Geschwister aber schon zwischen 20-23 h nach der Eiablage schlüpfen. Demnach greift der Letalfaktor *l 52* in geringem Ausmasse schon in die frühesten Entwicklungsprozesse ein und bedingt dadurch ein späteres Schlüpfen und eine eventuell leicht erhöhte embryonale Sterblichkeit. Genauere Aussagen sind jedoch nicht möglich, da die Embryonen nicht speziell untersucht wurden.

Die frisch geschlüpften letalen Lärvchen unterscheiden sich in der Grösse noch kaum von den Kontrollen und fressen wie diese. Doch bleiben sie bald im Wachstum zurück, häuten sich aber noch vom 1. zum 2. Larvenstadium. Auf diesem Stadium überleben nun die letalen Tiere noch längere Zeit, zum Teil bis 8 Tage nach der Eiablage. Im Gegensatz zur Mutante *letalmeander*, die allerdings noch die Häutung zum 3. Stadium vollzieht (Schmid 1949), scheinen

bei *l 52* alle Organe gleichzeitig ihr Wachstum einzustellen, sodass wir proportioniert verkleinerte Larven des 2. Stadiums feststellen. An folgenden Merkmalen sind die *l 52*–Tiere leicht von ihren normalen Geschwistern zu unterscheiden:

1. Die Körpergrösse der Larven ist deutlich vermindert.
2. Der Fettkörper ist nur mangelhaft ausgebildet, die Larven erscheinen daher viel durchsichtiger als normale Geschwister.
3. In den meisten Fällen kann eine Melanisierung des Analorganes (Gloor und Chen 1950) beobachtet werden.

In keiner der verschiedenen Zuchten vermochten sich die letalen *l 52*-Larven über das 2. Stadium hinaus zu entwickeln. Somit gehört *l 52* zu den wenigen bis jetzt bekannten Letalfaktoren, deren Hauptletalphase im zweiten Larvenstadium liegt (vg. Rizki 1952).

β) Körperwachstum.

Für die Untersuchungen des Körperwachstums wurden in Abständen von 24 h je 20 Tiere den Zuchtschalen entnommen und ihre Länge und grösste Breite bestimmt (vgl. S. 411). Da sich die letalen Larven des 1. Stadiums noch nicht eindeutig von ihren normalen Geschwistern unterscheiden lassen, zogen wir die Tiere einzeln in kleinen Schalen auf, sodass die gemessenen Letalen später mit Sicherheit von den Kontrollen getrennt werden konnten. Die *l 52*-Tiere wurden über die Verpuppungszeit der Kontrollen hinaus bis zum 8. Tage nach der Eiablage weitergezüchtet. Zu diesem Zeitpunkte sterben mehr als 80% der Tiere; nur wenige überleben bis zum 9. Tag.

In Abb. 1 sind die Messresultate wiedergegeben. Die Ergebnisse für die Kontrollen stimmen im wesentlichen mit denen von Gloor (1943) und Schmid (1949) überein; allerdings geben diese Autoren für die ersten Stadien etwas tiefere Masszahlen an. Anderseits fand Gloor für die 96 stündigen Larven leicht höhere Werte.

Schon kurz nach dem Schlüpfen, das ca. 20-26 h nach der Eiablage erfolgt, verlangsamen die *l 52*-Larven ihr Wachstum gegenüber den +/— Tieren. So finden wir den Mittelwert der Letalen schon im ersten Larvenstadium (Messpunkt 30 h) unter dem Normalwert. Die *l 52*-Larven erreichen ihre Maximalgrösse erst 168 h nach der Eiablage; sie haben dann annähernd die Körper-

länge normaler Kontrollen des 2. Stadiums kurz vor der Häutung zum 3. Stadium erreicht. Zu diesem Zeitpunkte wird das Wachstum der Larven vollständig eingestellt, und sie sterben nach 1 bis 2 Tagen. Das leichte Abfallen der Kurve in Abb. 1 zwischen 168

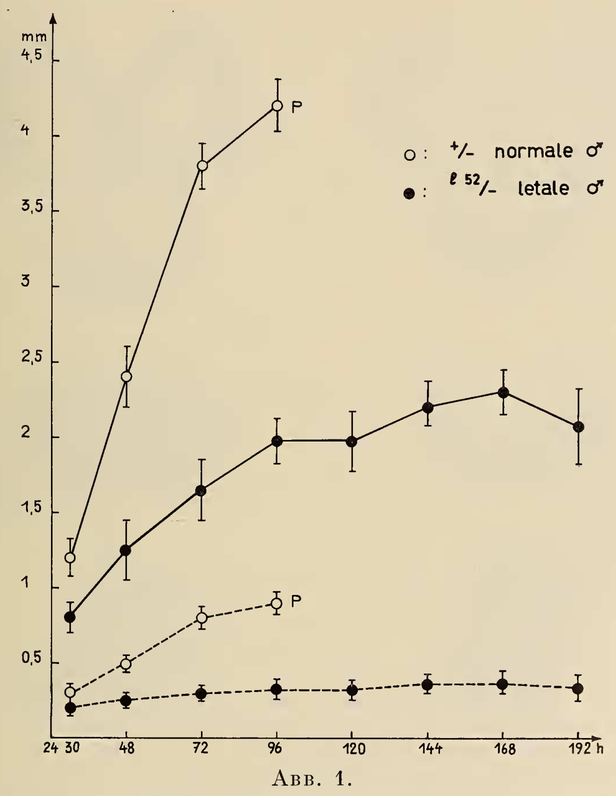


ABB. 1.

Verlauf der Mittelwertskurve für die Zunahme von Länge (ausgezogen) und Breite (unterbrochen) normaler und letaler Larven. Ordinate: Masse in mm; Abszisse: Alter in h ab Eiablage (25° C). P Zeitpunkt der Puparium-bildung. Mittelwerte und Standardabweichung aus je 20 Individuen berechnet.

und 192 h kann wahrscheinlich auf ein Erschlaffen und Schrumpfen der Larvenhaut zurückgeführt werden.

Wie weit dies nur durch einen Wasserverlust bedingt wird, muss noch offen bleiben, da sich das Gewicht zu dieser Zeit kaum verändert (vgl. Abb. 2).

Bei den normalen Larven nimmt die Breite ebenso ausgeprägt wie die Länge zu (Abb. 1). Die Kurve für die Letalen steigt dagegen nur gering an und verläuft 96 h nach der Eiablage horizontal. In keinem Falle werden die Werte der Kontrollen erreicht.

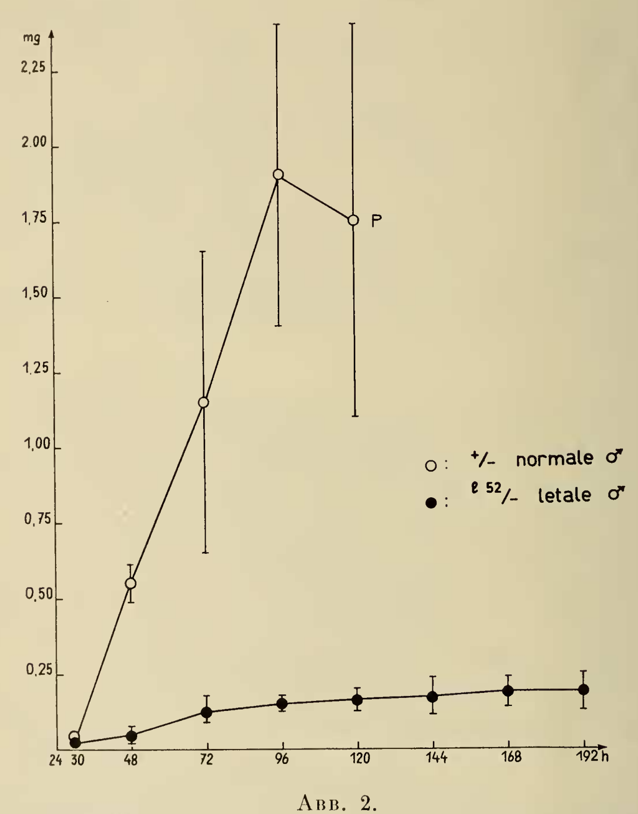


Abb. 2.

Verlauf der Mittelwertskurve für die Gewichtszunahme normaler (oben) und letaler (unten) Larven. Ordinate: Frischgewicht pro Individuum in mg; Abszisse: Alter in h ab Eiablage (25° C). P Zeitpunkt der Pupariumbildung. Mittelwerte und Standardabweichung aus je 20 Einzelbestimmungen berechnet.

Noch deutlicher als bei Körperlänge und -breite sind die Gewichtsunterschiede zwischen normalen und letalen Larven. In Abb. 2 sind die Ergebnisse aus je 20 Einzelbestimmungen wiedergegeben. Am augenfälligsten ist der Unterschied für die Werte der 48 h alten Tiere. Das Gewicht der letalen Larven beträgt zu

diesem Zeitpunkte nur 9,1% der normalen Geschwister. Im Laufe des Überlebens ist eine geringe Gewichtszunahme festzustellen, doch erreichen die *l 52*-Tiere maximal nur 34,5% der Kontrollen von 48 h.

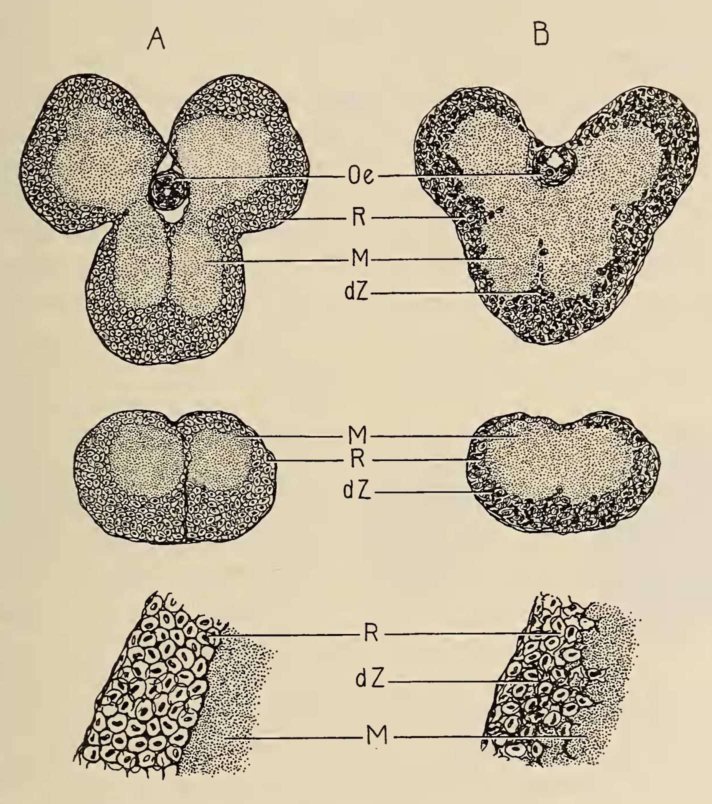


ABB. 3.

Schnitt durch ein normales (A) und letales(B) Gehirn (oben) und Unterschlundganglion (Mitte). Detailbild (unten). +/— Larven 48 h, *l 52*-Larven 72 h alt. R Rinde, M Mark, dZ degenerierte Zellen, Oe Oesophagus. Vergr. 288 mal, Detailbild Vergr. 792 mal.

b) *Histologische Veränderungen der l 52-Larven.*

In Zeitabständen von je 24 h wurden überlebende letale Larven geschnitten und gefärbt (vgl. S. 412). Als Kontrollen dienten Präparate von +/— Tieren des zweiten Stadiums Gehirn und Unterschlundganglion der letalen Larven unterscheiden

sich in Grösse und Form kaum von normalen Kontrollen (Abb. 3). Jedoch schon 48 h nach der Eiablage erscheinen die Zellkerne in der Rindenschicht lockerer gelagert, und die Abgrenzung gegenüber dem Markteil ist unscharf. An einzelnen Stellen treten degenerierende Zellen auf, deren Zahl sich mit zunehmendem Alter der *l 52*-Tiere vermehrt.

Auf den Schnitten der normalen +/— Tiere sind die um das larvale Gehirn angeordneten Imaginalscheiben als schmale, wenig gefaltete, aber intensiv sich färbende Bänder zu erkennen. In den letalen Larven findet man an den entsprechenden Stellen nur geringe Ansammlungen schwach gefärbter Zellen, die als letale Imaginalscheiben anzusprechen sind. Doch zeigen diese abortiven Imaginalorgane nie eine klar begrenzte Form (vgl. auch S. 426).

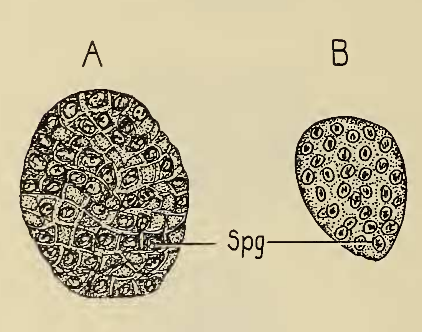


Abb. 4.
Schnitt durch einen normalen (A) und letalen (B) larvalen Hoden. +/— Larven 48 h, *l 52*-Larven 72 h alt. Spg Spermatogonien. Vergr. 400 mal.

Auch im Hodengewebe (Abb. 4) kann man schon sehr früh Unterschiede zwischen normalen und *l 52*-Larven beobachten. Ausser der wesentlich kleineren Form — oft nur die Hälfte der normalen Grösse — ist auch die Zellgrösse vermindert, obschon die Kerne gleichgross wie bei den Kontrollen erscheinen. Das Plasma lässt sich wesentlich weniger gut anfärben, was mit dazu beiträgt, dass sich die einzelnen Zellen nur undeutlich voneinander abheben. Degenerierte Spermatogonien sind aber nirgends zu beobachten, und die letalen Hoden weisen noch eine sehr kompakte Struktur auf (vgl. S. 426 und S. 441).

Der Darmtraktus der letalen *l 52*-Larven ist weitgehend normal ausgebildet. Das Lumen erscheint jedoch in den meisten Fällen vergrössert, da die Zellen der Darmwand zum Teil weniger hoch sind als bei den Kontrolltieren; doch ist der Stäbchensaum überall gut ausgebildet.

Die Zellzahl des Fettkörpers ist in den *l 52*-Tieren stark reduziert und die Grösse der einzelnen Zellen etwas vermindert. Der histologische Aufbau ist aber nicht verändert.

c) *Zahl der Speicheldrüsenkerne.*

Nach den Untersuchungen von Sonnenblick (1940) können in den Speicheldrüsen während der Larvenentwicklung keine Mitosen festgestellt werden. Schon vor dem Schlüpfen der Larven, ist somit die Kern- und Zellzahl des Drüsenkörpers festgelegt und verändert sich nicht mehr bis zur Verpuppung. Die Grössenzunahme beruht somit nur auf einer Vergrösserung der Zellvolumina. So konnten für die Zählungen letale Tiere von 120 h verwendet werden, deren Speicheldrüsengrösse ungefähr der normalen des zweiten Larvenstadiums entspricht. Mit wenigen Ausnahmen ist die Zellzahl der beiden Drüsenschenkel nicht gleich gross, sodass ein längerer und ein kürzerer Schenkel zu unterscheiden ist. Da es nach Grob (1952) auch möglich ist, Unterschiede zwischen den Geschlechtern festzustellen, wurden nur Speicheldrüsen von männlichen Larven als Kontrollen verwendet.

Tabelle 2.

Zahl (Mittelwerte und ihre mittleren Fehler) der Speicheldrüsenkerne normaler +/— und letaler l 52-Larven. P Wahrscheinlichkeit für nur zufällige Unterschiede zwischen Kontrollen und l 52.

Stamm	n	Längerer Schenkel	Kürzerer Schenkel	Mittel beider Schenkel
+/—	15	129,0 ± 3,39	121,0 ± 2,89	125,0 ± 2,54
l 52	15	138,7 ± 3,40	129,2 ± 2,30	134,0 ± 1,33
P		0,05	0,05	0,001

Zählt man die Kernzahl der einzelnen Schenkel letaler und normaler Speicheldrüsen getrennt aus (Tab. 2), so erhält man mit einem t-Test eine schwache Sicherung für erhöhte Werte bei *l 52*-Tieren (P = 0,05). Für die Summe der beiden Schenkel ist der Unterschied dagegen gesichert.

d) *Nahrungsaufnahme.*

Da, wie wir gesehen haben (vgl. S. 416), das Wachstum der überlebenden Larven nur gering ist, stellte sich die Frage, ob diese Störung auf eine ungenügende Nahrungsaufnahme zurückzuführen ist. Es wurden deshalb je 20 Larven von 72 h auf feuchtem Filter-

papier und Frischhefe, welcher entweder Lackmus, Kohle oder Neutralrot beigefügt wurde, weiter gezüchtet. Schon nach kurzer Zeit konnte bei allen drei Versuchsserien Farbstoff im Darm der letalen Tiere beobachtet werden. Die Larven, welche mit Lackmus

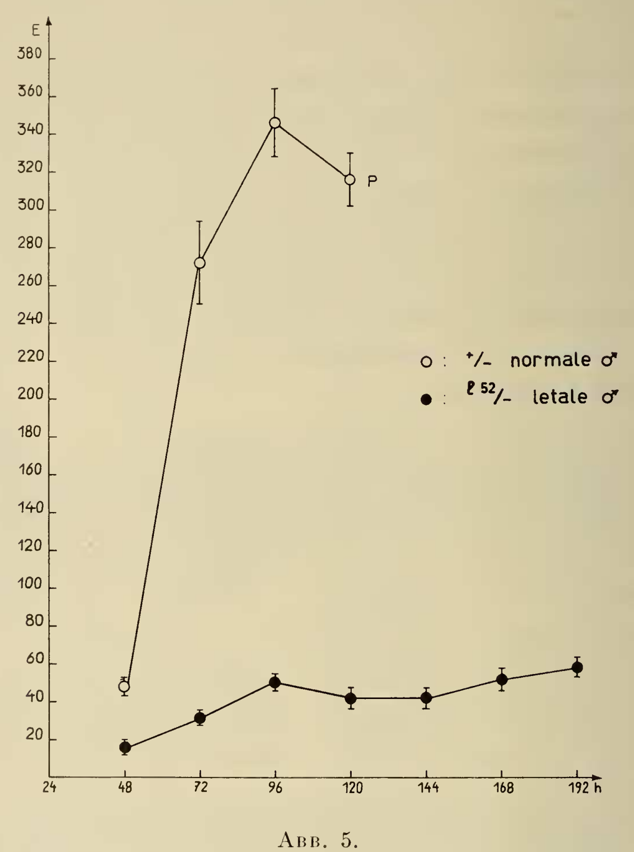


Abb. 5.

Verlauf der Gesamtmenge der freien Aminosäuren und Peptide für +/— (oben) und *l 52*-Tiere (unten) bezogen auf eine Larve. Die einzelnen Punkte entsprechen den Mittelwerten aus je 8-10 Einzelbestimmungen, deren Streuung in der Kurve angegeben ist. P Zeitpunkt der Pupariumbildung. Abszisse: Alter der Tiere in h ab Eiablage (25° C); Ordinate: Extinktionswerte ×1000.

gefüttert wurden, zeigten die normale Aufteilung in einen sauren vorderen und einen alkalischen hinteren Darmabschnitt (Strasburger 1932). Diese Schichtung des Darminhaltes, wie auch die Nahrungsaufnahme, verändert sich nicht bis zum Tode der Tiere.

3. Das physiologische Schädigungsmuster

a) *Das Verhalten der Gesamtmenge ninhydrinpositiver Stoffe im Laufe der Entwicklung.*

Da die letalen Tiere nicht mit Sicherheit vor dem zweiten Larvenstadium erkannt werden können, wurden als erstes Untersuchungsstadium 48 h alte Tiere verwendet (von der Eiablage an gerechnet) und alle übrigen Messungen in Abständen von je 24 h durchgeführt (Technik S. 412).

α) *Gesamtmenge pro Larve.*

Während der ersten drei Tage der larvalen Entwicklung steigt bei normalen Larven die Gesamtmenge der freien Aminosäuren und Peptide sehr stark an, besonders ausgeprägt in der ersten Zeit nach der Häutung zum 3. Larvenstadium (Abb. 5). In den migrierenden Larven fallen bis zur Verpuppung (120 h) die Werte wieder leicht ab.

Diese Resultate stehen im Einklang mit den Beobachtungen von Hadorn und Stumm-Zollinger (1953), Benz (1955) und Faulhaber (1959).

Auch die letalen Larven zeigen eine Zunahme der freihen Aminosäuren und Peptide. Zu Beginn der Entwicklung liegen die Werte weit unter denen der Kontrollen. Erst im Alter von 96 h wird ungefähr die Menge erreicht, die für die normalen Geschwister am Ende des 2. Larvenstadiums charakteristisch ist. Nach einem geringen Abfall steigt die Kurve erneut an. 192 h nach der Eiablage, d.h. vor dem Absterben der Tiere, liegen die Werte sogar etwas höher als beim ersten Maximum.

β) *Gesamtmenge pro mg Frischgewicht.*

Die Abb. 6 zeigt, dass die Kontrollwerte von 48 h an bis zur Puparisierung (P) stark abnehmen. Dies beruht wohl zur Hauptsache auf der ausgeprägten Entwicklung des Fettkörpers. Die letalen Larven aber, die fast keinen Fettkörper aufbauen, zeigen einen sehr starken Anstieg mit einem Maximum bei 96 h, das über den Kontrollwerten der gleich alten Normallarven des 3. Stadiums liegt. Doch wird der hohe Wert der physiologisch gleich alten Kontrolltiere (48 h) von den Letalen nie erreicht. Da nach 144 h bei den letalen Larven keine wesentliche Gewichtszunahme mehr

beobachtet werden kann, ist nach den Befunden der Abb. 5 zu erwarten, dass die Kurvenwerte nach einem deutlichen Abfall zwischen 96 und 120 h wieder ansteigen.

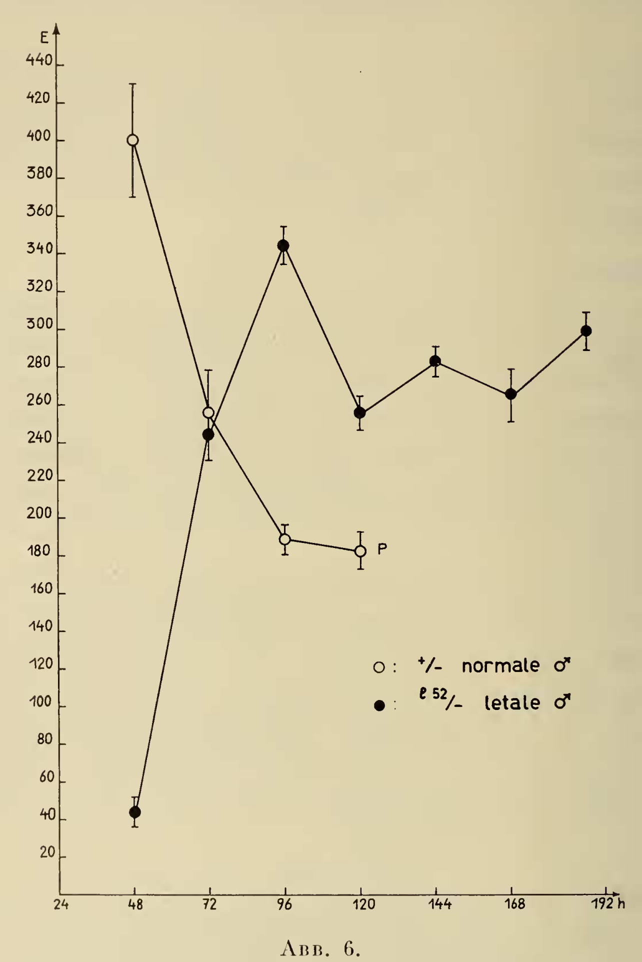


Abb. 6.

Verlauf der Gesamtmenge der freien Aminosäuren und Peptide für +/— und *l 52* pro mg Frischgewicht. Bezeichnungen gleich wie Abb. 5.

b) *Die freien Aminosäuren und Peptide.*

Die quantitative Untersuchung an eindimensionalen Chromatogrammen ergab für die ninhydrinpositiven Stoffe der letalen Tiere

das selbe Stoffmuster wie für den Wildstamm. Auch die mengenmässige Aufteilung ist mit wenigen Ausnahmen gleich wie bei den Kontrollen. Nur die Extinktionswerte eines Peptids (Peptid 3, vgl. Abb. 19c) und des Glutamins nehmen auf den Chromatogrammen der letalen Larven wesentlich stärker zu. Im Gegensatz dazu liegen die Werte des Tyrosins in allen Altersstadien deutlich unter denen der Kontrollen. Nach diesen Befunden scheint der Proteinstoffwechsel aber nicht entscheidend betroffen zu sein: wenn auch die Zunahme an freien Aminosäuren und Peptiden in den letalen Larven verzögert ist, werden doch im Laufe des Überlebens Werte erreicht, die denen der physiologisch gleich alten Larven im zweiten Stadium entsprechen.

4. Transplantationsversuche

Verschiedene Organanlagen (Gonaden und Imaginalscheiben) wurden im Transplantationsversuch auf ihr Leistungsvermögen im normalen Wirtsmilieu geprüft. Bei diesen Versuchen war man darauf bedacht, den schädigenden Einfluss des letalen Milieus möglichst klein zu halten. Da aber die letalen Larven im Wachstum so sehr hinter ihren normalen Geschwistern zurückbleiben und im Alter von 48 h (vgl. Abb. 1) erst die Grösse der Kontrolltiere von 30 h erreichen, konnten als Spender erst 72 h alte letale Larven verwendet werden, die physiologisch weitgehend den +/— Tieren des 2. Stadiums entsprechen.

Tabelle 3.

Transplantation von normalen +/— und letalen l 52 larvalen Hoden in normale Wirtslarven von 48 und 72 h.

Implantat	n	Wirt	Transplantationserfolg		
			Imaginaler Hoden	Restkörper	Kein Implantat gefunden
Hoden +/— 48 h	15	+/— 72 h	13	1	1
Hoden *l 52* 72 h	20	+/— 72 h	—	2	18
Hoden +/— 48 h	16	+/— 48 h	15	1	—
Hoden *l 52* 72 h	16	+/— 48 h	—	1	15

Gonaden: Die letalen Hoden wurden in der ersten Versuchsserie in Wirtslarven des frühen dritten Stadiums implantiert (Tab. 3). Von 15 Kontrollversuchen wurden in 13 Fällen nach der Metamorphose des Wirtes normal entwickelte Hoden gefunden. Von den letalen Gonaden aber fanden sich im metamorphosierten Wirt nur in 2 von 20 Fällen kleine schwarze Restkörper. In allen übrigen Wirten war das Implantat offenbar schon vollkommen abgebaut worden. Eine Weiterentwicklung des letalen Gewebes wurde nirgends beobachtet. Dieses Versagen beruht aber vielleicht nur darauf, dass der Entwicklungsrückstand im letalen Hoden vom Zeitpunkt der Implantation an bis zur Metamorphose des Wirtes nicht aufgeholt werden kann, und die Gonaden daher noch nicht in der Lage sind, die Metamorphose mitzumachen. Deshalb wurden in einer zweiten Versuchsserie die larvalen *l 52*-Hoden in Wirtslarven des zweiten Stadiums implantiert (Tab. 3). Trotz der nun verlängerten Entwicklungszeit in der normalen Umgebung vermochte keines der letalen Implantate zum Adultorgan zu metamorphosieren. Die meisten degenerierten vollständig, und nur eines konnte noch als Restkörper gefunden werden. Somit scheint *l 52* sich letal autonom in den Hoden auszuwirken.

Gehirn und Imaginalscheiben: Beim Sezieren der Spender konnten die auf den Schnittpräparaten festgestellten Unterschiede zwischen +/— und *l 52*-Larven wieder beobachtet werden (S. 420). Gehirn und Unterschlundganglion sind in der Grösse kaum verschieden, doch fehlen beim Letalstamm die Imaginalscheiben fast vollständig. So überrascht das Ergebnis der Transplantationsversuche nicht weiter: Nur in 2 von 40 mit Implantaten beschickten Wirten wurde ein kleiner Restkörper gefunden. Somit konnten weder die Imaginalscheiben noch das Gehirn die Metamorphose durchführen, beziehungsweise überstehen. Der prozentuale Anteil an degenerierten Implantaten war auch in den Kontrollversuchen relativ hoch, da die transplantierten Gewebeteile ziemlich gross und empfindlich sind und deshalb durch die Operation leicht verletzt werden. Dennoch konnten sich in über 60% der Fälle verschiedene Anteile von Gehirn, Augen und Kopfkapsel imaginal entwickeln.

Nach diesen Befunden lässt sich allerdings noch nicht endgültig entscheiden, ob die Wirkung des Letalfaktors *l 52* in den Imaginalscheiben primär autonom ist, oder ob schon sehr früh, d.h. vor der

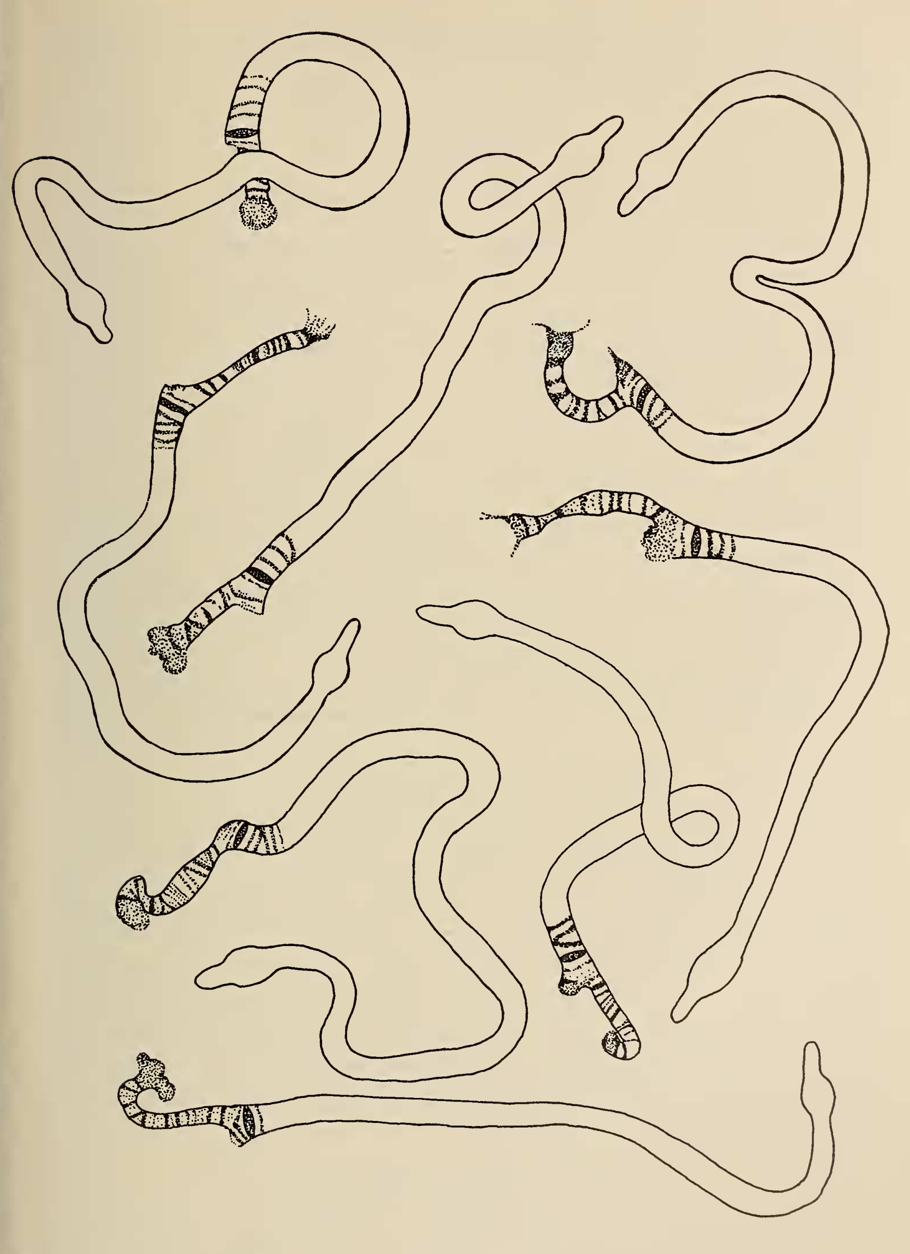


ABB. 7.

X-Chromosom verschiedener heterozygoter *l 52*/+ Weibchen. Nur Bänderspektrum des rechten veränderten Chromosomenabschnittes genau gezeichnet.

Transplantation schädigende und irreparable Einflüsse der letalen Umgebung wirksam waren.

5. Diskussion

a) *Zur chromosomalen Grundlagen.*

Die verringerte Crossingover-Häufigkeit im Abschnitt *garnet-forked* des X-Chromosoms (vgl. Tab. 1) deutet auf eine chromosomale Veränderung in dieser Region hin. Es konnte auch auf vielen Speicheldrüsenpräparaten heterozygoter *l 52*-Weibchen eine deutliche Verdünnung am rechten Ende des letalen X-Chromosoms beobachtet werden (Abb. 7), die die Bänder rechts von *Bar* (so zum Beispiel den Locus *carnation*) umfasst. Dass der *Bar*-Locus nicht betroffen ist ergibt sich daraus, dass in allen bisher durchgeführten Kreuzungen mit *l 52* der Faktor *Bar* des *M5*-Chromosoms sich in den heterozygoten Weibchen *(l 52/M5)* nie hemizygot auswirkte. Die recessive Mutante *carnation* (62,5) jedoch sollte, falls es sich beim Faktor *l 52* wirklich um eine Deficiency handelte, in den heterozygoten *l 52 / car*-Tieren sichtbar sein. Dies wurde nun aber in keinem der über 3000 untersuchten Tiere beobachtet. Es scheint zudem auch wenig wahrscheinlich, dass die hemizygoten Träger einer so grossen Deficiency bis zum zweiten Larvenstadium überleben können. Es dürfte eher eine Translokation des fehlenden Chromosomenabschnittes an eines der Autosomen vorliegen. Deshalb wurden für das II., III. und IV. Chromosom Translokationsteste durchgeführt, die aber in allen drei Fällen negativ ausfielen. Auch zeigten die Mitosen in Ganglienzellen der heterozygoten Weibchen in den meisten Fällen der untersuchten Metaphasen zwei normale X-Chromosomen. So bleibt vorläufig die Frage noch unbeantwortet, auf welche chromosomale Veränderung die Wirkung des Letalfaktors *l 52* zurückzuführen ist, und worauf die auf den Speicheldrüsenpräparaten sichtbare Verminderung des Chromosomalenmaterials beruht.

b) *Zum Schädigungsmuster.*

Die verschiedenen morphologischen Phäne, wie vermindertes Wachstum und geringere Gewichtszunahme, erhöhte embryonale Sterblichkeit und Degenerationserscheinungen in den einzelnen Organsystemen, deuten auf frühes Wirken des Letalfaktor *l 52* hin.

In seinem histologischen Aufbau kaum verändert ist der Darmtraktus. Die Nahrungsaufnahme ist normal, doch könnten Abbau und Aufnahme der Nährstoffe durch die Darmwand betroffen sein, da der Fettkörper in den letalen Larven nur sehr schwach entwickelt ist. Dagegen aber spricht das kaum veränderte Inventar der freien Eiweissbausteine, die auch quantitativ, obschon mit ziemlich grosser Verzögerung, die Kontrollwerte der physiologisch gleich alten Tiere erreichen.

Die Vermehrung der Zellzahl in den larvalen Speicheldrüsen scheint zunächst nicht in das Gesamtbild des Schädigungsmusters hineinzupassen, da wir sonst überall eine ausgesprochene Hemmung der Entwicklungsvorgänge beobachten konnten. Dieser Verzögerung entspricht auch die geringe Volumenzunahme des Drüsenkörpers. Die Zellzahl wird aber schon viel früher, in der Embryonalentwicklung festgelegt (Sonnenblick 1940). Nun zeigen die Bestimmungen der Schlüpfrate (vgl. S. 415) aber ausser einer erhöhten embryonalen Sterblichkeit auch eine Verlängerung der Embryonalentwicklung. Dadurch wird wahrscheinlich auch die Zeitdauer der Mitosetätigkeit in den Speicheldrüsenanlagen verlängert, was zu einer grösseren Anzahl von Kernen in den larvalen Speicheldrüsen führen kann.

c) *Der phasenspezifische Stillstand.*

Der Faktor *l 52* zählt zu den wenigen bis jetzt bekannten Letalfaktoren, deren Letalphase im zweiten Larvenstadium liegt (vgl. Hadorn 1955 und Rizki 1952). Da aber nach den vorläufigen Untersuchungen noch nichts genaueres über die chromosomale Grundlage gesagt werden kann (S. 428), ist es bis jetzt auch noch nicht möglich zu entscheiden, in welchem Masse die am rechten Chromosomenende liegenden Gene betroffen sind. Dennoch ist der Zeitpunkt von besonderem Interesse, da für die meisten schon untersuchten Chromosomenveränderungen von entsprechendem Ausmass am linken Chromosomenende die Letalphase in die embryonale oder frühlarvale Entwicklung fällt (vgl. Hadorn 1955). In Übereinstimmung mit der Theorie „Vom stufenweisen Einsatz der einzelnen Gene“ (Hadorn 1955) wäre daher anzunehmen, dass die am rechten Ende des X-Chromosoms betroffenen Genloci für die embryonalen und frühlarvalen Entwicklungsprozesse nicht unbedingt notwendig sind.

IV. DER FAKTOR *l 8*

1. Genetik

Der Letalfaktor *l 8* liegt im X-Chromosom und wird in einem balancierten System über *M 5* gezüchtet. Die Lokalisation erfolgte wie bei *l 52* (S. 413) mit den bekannten rezessiven Faktoren *sc*, *ec*, *ct*, *v*, *g*, *f*. Unter den 604 ausgezählten Männchen traten für die Strecke *ct-v* beide möglichen Neukombinationen auf. Danach muss *l 8* zwischen diesen beiden Loci liegen (vg. S. 413). Für diesen Abstand wurden 85 Crossingover ausgezählt. In 8 der Fälle wurde $+^{l8}$ von *ct* und in 77 von *v* getrennt. Daraus lässt sich der Abstand in bezug auf *ct* und *v* berechnen. Bezogen auf *ct* ergibt sich der Locus 21,32 ± 1,46 und bezogen auf *v* der Locus 20,25 ± 1,11. Nach der Regel, dass die obere und untere Grenze durch den dreifachen Wert von σ gegeben ist, erhalten wir einen Bereich von 19,0-23,6. Da aber *l 8* nach den erhaltenen Crossingovers nicht links von *ct* (20,0) liegen kann, können wir den Bereich auf 20,0-23,6 einschränken.

2. Entwicklung der Mutante

a) *Schlüpfrate, Ueberlebensdauer und allgemeine Entwicklungsleistung.*

Die Schlüpfrate des *l 8*-Stammes unterscheidet sich mit 96,5% nicht von der eines Wildstammes („*Sevelen*“) mit 96%. Daraus kann auf eine normale Embryonalentwicklung geschlossen werden. Die letalen Tiere häuten sich auch gleichzeitig mit ihren normalen Geschwistern. Das Grössenwachstum ist anfangs kaum verzögert. Nach der Häutung zum 3. Larvenstadium entwickeln sich die *l 8*-Tiere nicht mehr weiter. Sie überleben auf dieser Entwicklungsstufe, bis die gleich alten Kontrollen als Imagines ausschlüpfen. Höchstens 17% der letalen Larven bilden 8-9 Tage nach der Eiablage noch ein Puparium, das jedoch viel länger ist als normal. Der Kopf und die übrigen Imaginalanlagen werden in solchen Pseudopuppen (Hadorn 1937) nie ausgestülpt. Demnach ist *l 8* ein monophasischer, spätlarvaler Letalfaktor.

Mit zunehmendem Alter der überlebenden letalen Tiere wird das Analorgan (Gloor und Chen 1950) immer häufiger melanisiert,

und es treten grosse melanotische Pseudotumoren auf. Beim Absterben der Tiere weisen mehr als 75% aller letalen Larven Tumoren auf, die jedoch die Lebensdauer kaum beeinträchtigen. In allen *l 8*-Larven ist der Fettkörper stark reduziert.

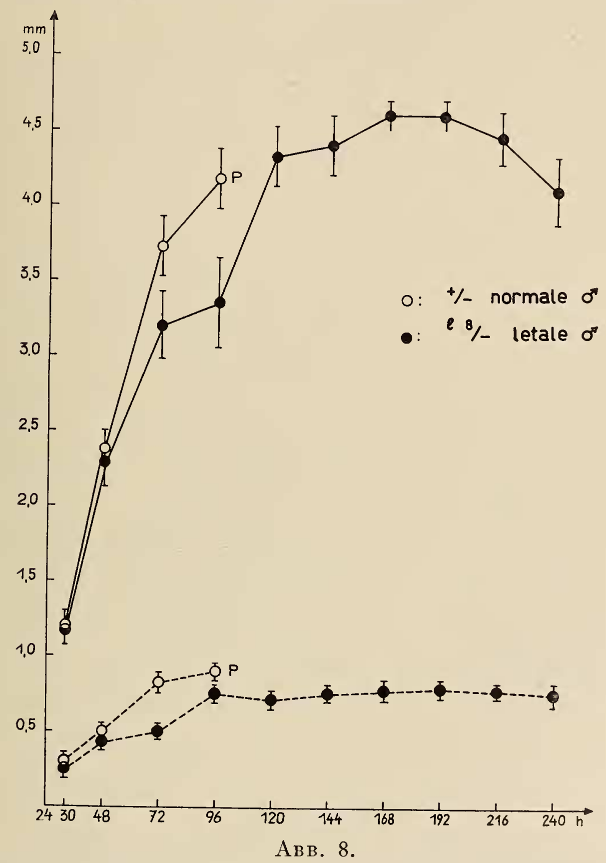


ABB. 8.

Verlauf der Mittelwertskurve für die Zunahme der Länge (ausgezogen) und Breite (unterbrochen) normaler und letaler Larven. Ordinate: Mass in mm; Abszisse: Alter in h ab Eiablage (25° C). P Zeitpunkt der Pupariumbildung. Mittelwerte und Standardabweichung aus je 20 Individuen berechnet.

b) *Körperwachstum.*

α) *Länge und Breite.*

Die untersuchten Larven des 1. Stadiums wurden wiederum einzeln in kleinen Schalen aufgezogen (S.416), so dass die gemessenen

letalen Tiere mit Sicherheit von den Kontrollen getrennt werden konnten. Die überlebenden letalen Larven wurden auf frischem Futter bis 10 Tage nach der Eiablage weitergezüchtet. Diesen Zeitpunkt überleben höchstens 2-3% der Tiere, die in den meisten Fällen Pseudopuppen bildeten.

In Abb. 8 sind die Messresultate wiedergegeben. Auf die geringfügigen Unterschiede der Ergebnisse für die normalen Larven zu den Arbeiten von Gloor (1943) und Schmid (1949) wurde bereits hingewiesen (S. 416). Die letalen Larven des 1. und 2. Stadiums unterscheiden sich noch kaum in Länge und Breite von ihren normalen Geschwistern. In den nun folgenden 24 h (48-72 h) bleiben sie jedoch im Wachstum zurück, sodass der Normalindex (prozentualer Anteil der Körperlänge und -breite der letalen Larven bezogen auf normale Kontrollen) von 96,2% auf 85,5% fällt. Die Wachstumsverzögerung wird in den nächsten 24 h noch ausgeprägter. Die Grösse der letalen Larven beträgt jetzt nur noch 82,8% der Kontrollen. Während sich nun die normalen Larven in den folgenden Stunden verpuppen, setzt bei den *l 8*-Tieren ein starkes Wachstum ein und nach 24 h ist der „Vorsprung" der +/— Larven aufgeholt. In den nachfolgenden Tagen wachsen die überlebenden *l 8*-Larven noch etwas weiter und erreichen 168 h nach der Eiablage mit einem Normalindex von 110,4% ihre grösste Körperlänge. Nach diesem Maximum, das ungefähr 24 h erhalten bleibt, beginnt die letale Larvenhaut in den letzten 1-2 Tagen vor dem Tode der Tiere zu schrumpfen. Die gleichzeitig damit verbundene Gewichtsabnahme (Abb. 9) deutet auf einen Wasserverlust hin.

Auch bei den Messwerten der grössten Larvenbreite ist eine entsprechende Wachstumsverzögerung um 24 h zu beobachten, nur wird hier der Wert der Kontrollen nie erreicht. Dies beruht sicher zum grössten Teil auf dem nur mangelhaft ausgebildeten Fettkörper.

β) Gewichtszunahme.

Die Verzögerung in der Entwicklung der *l 8*-Larven ist in der Zunahme des Gewichts noch deutlicher ausgeprägt (Abb. 9). Die Kurven verlaufen mit einer Verschiebung um 24 h parallel, ohne dass jedoch die letalen das Gewicht der normalen Larven erreichen wurden. Nach einer Gewichtsabnahme im Alter von 120 h, entsprechend den +/— Larven von 96 h, verändert sich das Körper-

gewicht der letalen Tiere kaum mehr. Erst 192 h nach der Eiablage fällt mit dem Beginn des langsamen Absterbens die Kurve für das Körpergewicht parallel zur entsprechenden Abnahme der Längen- und Breitenmasse.

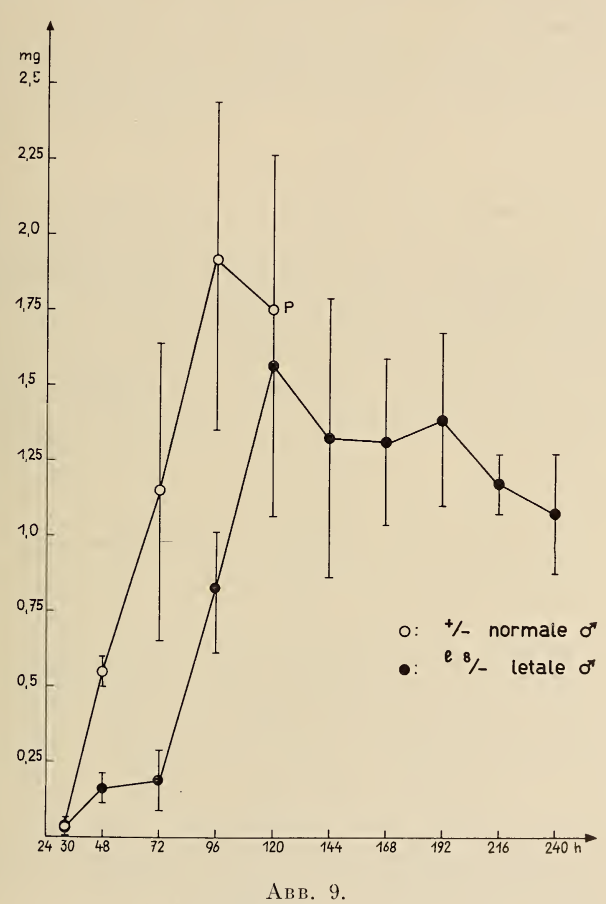


ABB. 9.
Verlauf der Mittelwertskurve für die Gewichtszunahme normaler (oben) und letaler (unten) Larven. Ordinate: Frischgewicht pro Individuum in mg; Abszisse: Alter in h ab Eiablage (25° C). P Zeitpunkt der Pupariumbildung. Mittelwerte und Standardabweichung aus je 20 Einzelbestimmungen berechnet.

γ) *Einzelne Organsysteme.*

In den folgenden Untersuchungen ging es darum, festzustellen, ob die äusserlich sichtbare Verzögerung des Körperwachstums auch

in den einzelnen Organsystemen nach 120 h eingeholt wird. In den Tab. 4-7 sind ausser den Messergebnissen noch die Sicherungen P (t-Test) für die Differenzen zwischen den zeitlich absolut, beziehungsweise den physiologisch entsprechend gleichweit entwickelten Tieren angegeben.

Die Länge des Darmes ist wie erwartet bei den letalen Larven von 96 h geringer als bei den gleich alten Kontrollen (Tab. 4). Der Unterschied gleicht sich aber in den nächsten 24 h fast völlig

Tabelle 4.

Darmlänge (in mm) und Verhältnis von Körperlänge zu Darmlänge normaler +/— und letaler l 8-Larven. P Wahrscheinlichkeit für nur zufällige Unterschiede in der Darmlänge normaler und letaler Larven. Oberer Wert (0,004) für absolut gleich alte, unterer Wert für physiologisch entsprechende Tiere (120 h gegen 96 h).

Alter	Stamm	Darmlänge	Körperl./ Darml.	P
96 h	+/—	12,05 ± 0,212	1 : 2,8	0,004
	l 8	10,23 ± 0,470	1 : 2,7	
120 h	*l 8*	11,27 ± 0,322	1 : 2,7	0,05

aus. Das Verhältnis von Körperlänge zu Darmlänge zeigt uns, dass in den *l 8*-Tieren das Wachstum dieses Organsystems proportional mit der Grössenzunahme erfolgt. Der Wert von 1: 2,8 für die Kontrollen stimmt genau mit den Ergebnissen von Grob (1952) überein. Da die Darmlänge der letalen Larven nie ganz diejenige der normalen erreicht, ist es verständlich, dass auch die Verhältniszahlen tiefer liegen. Doch ist der Unterschied wegen der relativ grossen Streuung nicht gesichert.

Für die Untersuchungen der letalen Gonaden wurde an den in physiologischer Lösung herauspräparierten Hoden der grösste Durchmesser bestimmt und mit den Messungen an normalen Hoden aus 96 h alten Larven verglichen (Tab. 5). Die Kontrollwerte meiner Versuchsserien stimmen weitgehend mit den Resultaten von Kerkis (1931), Gloor (1943) und Schmid (1949) überein. Sie liegen jedoch etwas höher. Dies dürfte auf Unterschiede in den verwendeten Stämmen zurückzuführen sein. 96 h nach

TABELLE 5.

Grösster Durchmesser (in μ) normaler +/— und letaler l 8 larvaler Hoden. P Wahrscheinlichkeit für nur zufällige Unterschiede normaler und letaler Hoden. Oberer Wert für absolut gleich alte (96 h), unterer Wert für physiologisch entsprechende Tiere (120 h gegen 96 h).

Alter	+/—	*l 8*	P
96 h	297 ± 7,51	119 ± 3,52	< 0,001
120 h	—	121 ± 5,17	< 0,001

der Eiablage erreichen die letalen Hoden ihren grössten Durchmesser. Dieser beträgt aber nur 40% eines normal ausgebildeten Hodens. Die Struktur der letalen Gonaden erscheint durchsichtiger und weniger kompakt als bei normalen. Wie weit die Entwicklungspotenz durch *l 8* betroffen wird sollen Transplantationsversuche zeigen (S. 450).

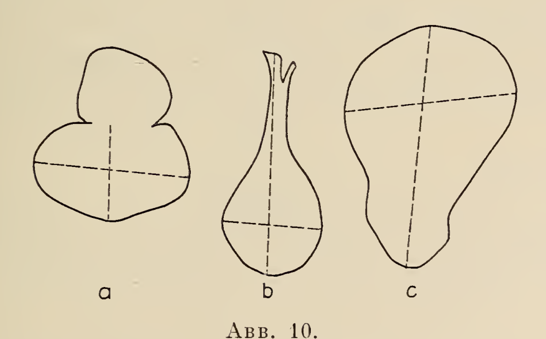


ABB. 10.

Zu Tab. 6. Messtrecken als gestrichelte Linien in Augen-Antennenscheibe (*a*), ventrale Mesothorakalscheibe (*b*) und Flügelscheibe (*c*) eingetragen. Vergr. 50 mal.

Die letalen Imaginalscheiben entsprechen in ihrer äusseren Form ganz denjenigen der normalen Larven. Sie sind jedoch wesentlich kleiner und zarter ausgebildet. In Abb. 10 sind schematisch die verwendeten Messtrecken in den einzelnen Imaginalscheiben eingetragen. Die Messresultate (Tab. 6) der +/— Tiere liegen für die drei untersuchten Imaginalscheibenpaare etwas unter den von GLOOR (1945) und GROB (1952) beobachteten Werten.

In den *l 8*-Larven erreichen jedoch die Imaginalscheiben in Länge und Breite höchstens 50-60% der Kontrollen. Wie in den Gonaden wird 96 h nach der Eiablage das Wachstum eingestellt.

Tabelle 6.

Längen und Breiten (in μ) normaler +/— und letaler l 8 Imaginalscheiben. Unterschiede alle hoch gesichert verschieden (P<0,001), sowohl für absolut, wie physiologisch entsprechende Entwicklungsstadien.

Imaginal-scheibe	Alter	Mass	+/—	l 8
Flügelscheibe	96 h	Länge	438 ±9,05	230 ±6,11
		Breite	315 ±6,62	142 ±6,00
	120 h	Länge	—	229 ±9,22
		Breite	—	125 ±1,24
Augenscheiben (ohne Antennenanteil)	96 h	Länge	201 ±9,94	106 ±3,29
		Breite	203 ±11,90	95 ±7,16
	120 h	Länge	—	97,8 ±8,84
		Breite	—	86,4 ±2,16
Ventrale Mesothorakalscheibe	96 h	Länge	341 ±5,56	214 ±7,15
		Breite	183 ±14,75	74,5 ±3,29
	120 h	Länge	—	195 ±6,07
		Breite	—	69,8 ±4,14

Tabelle 7.

Länge und Breite (in μ) normaler +/— und letaler l 8 Speicheldrüsen. Alle Unterschiede hoch gesichert verschieden (P<0,001), sowohl für absolut, wie physiologisch entsprechende Tiere.

Alter	Mass	+/—	l 8
96 h	Länge	1329 ±30,58	549 ±21,19
	Breite	175 ± 5,19	56,8 ± 4,12
120 h	Länge	—	534 ±24,55
	Breite	—	61,7 ± 4,68

Auch die Speicheldrüsen erreichen in den *l 8*-Larven schon mit 96 h ihre grösste Länge und Breite (Tab. 7); obschon das Hauptwachstum der normalen Speicheldrüsen erst zwischen dem 3. und 4. Tage erfolgt (Grob 1946), kann in dem physiologisch entsprechenden Zeitabschnitt von 96-120 h bei den letalen Larven keine Grössenzunahme beobachtet werden. Die Länge der Drüsen schenkel beträgt höchstens 40% der Norm, die Breite sogar nur 30%. Aeusserlich scheint aber die Struktur nicht verändert.

3. Histologische Merkmale

a) *Speicheldrüsenkerne.*

Da in allen bis jetzt untersuchten Organsystemen des Letalstammes *l 8* eine Verzörgerung oder ein vorzeitiger Stillstand des Wachstums beobachtet werden konnte, wurden wie bei *l 52* (S. 421) auch hier die Kernzahlen der letalen Speicheldrüsen mit normalen verglichen. Für diese Untersuchungen wurden die Larven teils bei 25° C, teils bei 18° C gezüchtet. Bei der tieferen Temperatur wird die Entwicklungszeit stark verlängert, was zu einer Vermehrung der Zellzahl in den einzelnen Organsystemen führen könnte. In Tabl. 8 sind die mittleren Kernzahlen für die einzelnen

Tabelle 8.

Kernzahlen normaler +/— und letaler l 8 Speicheldrüsen bei verschiedenen Zuchttemperaturen. P Wahrscheinlichkeit für nur zufällige Unterschiede zwischen den normalen und letalen Kernzahlen. Unterschiede zwischen 25° C und 18° C für +/— und l 8 gesichert.

Stamm	n	Längerer Schenkel	P	Kürzerer Schenkel	P	Mittel beider Schenkel	P
+/— 25°C	12	134,83 ± 1,04	$<0,001$	121,83 ± 2,95	$>0,05$	128,1 ± 3,46	0,05
l 8 25°C	14	125,50 ± 1,76		117,3 ± 2,36		121,30 ± 1,60	
+/— 18°C	10	146,83 ± 1,74	$<0,001$	137,83 ± 1,88	$<0,001$	141,30 ± 2,85	$<0,001$
l 8 18°C	14	135,82 ± 2,10		127,91 ± 1,86		131,8 ± 1,47	

Schenkel, wie auch für die Speicheldrüsen als Ganzes angegeben. Die Drüsen wurden bei normalen und letalen Larven aus 96 h alten Tieren herausseziert und mit Feulgen gefärbt. In den Speicheldrüsen der bei 25° C gezüchteten letalen Larven sind weniger Kerne enthalten als in den Kontrollen. Der Unterschied ist aber nur schwach gesichert, da die Streuung der Einzelwerte ziemlich gross ist. Deutlicher sind die Unterschiede zwischen den bei 18° C gehaltenen Tieren. Wie erwartet nimmt mit verlängerter Embryonalentwicklung auch die Kernzahl zu. In den normalen Larven ist diese Zunahme etwas grösser als bei den letalen, sodass wir nun für beide Schenkel, wie für den ganzen Drüsenkörper gesicherte Unterschiede erhalten.

Die geringere Kernzahl in den letalen Larven vermag allein den Grössenunterschied (Tab. 7) in der Ausbildung der Speicheldrüsen gegenüber den normalen Kontrollen nicht zu erklären. Nach der Kernplasma-Relation müsste die Zellgrösse direkt von der Grösse des Zellkerns abhängig sein. Die Kernvolumina lassen sich nach der Formel $V = 4/3\pi\ ab^2$ berechnen, wobei a der halbe grösste und b der halbe kleinste Durchmesser ist. Der konstante Faktor $4/3\pi$ wurde für diese nur vergleichende Betrachtung der Tab. 9 weggelassen.

TABELLE 9.

Kernvolumina der Speicheldrüsen (in μ^3) normaler +/— und letaler l 8 Larven. Unterschiede zwischen normalen und letalen Kernvolumina hoch gesichert.

Alter	Kernvolumen in	
	l 8	+/—
96 h	17,948 ± 0,843	141,622 ± 8,462
120 h	18,409 ± 1,101	—

Die Kernvolumina in normalen Speicheldrüsen sind mindestens 6-7 mal grösser als bei *l 8*-Larven. Die Zunahme zwischen 96 und 120 h ist bei *l 8* nur gering und liegt innerhalb der Streuung des Materials.

b) *Verschiedene Organsysteme*

Für die histologischen Unterschungen der übrigen Organsysteme wurden *l 8*-Larven von 72, 96, 120, 144 und 168 h fixiert und geschnitten. Als Kontrollen dienten Präparate von 72 und 96 h alten „*Sevelen*"-Tieren (Technik vgl. S. 412).

Im Nervensystem konnte histologisch kein Unterschied zwischen Normalen und Letalen beobachtet werden. Nur die Grösse der Ganglien ist, wie bei den meisten übrigen Organsystemen, in den *l 8*-Tieren gegenüber den Kontrollen vermindert.

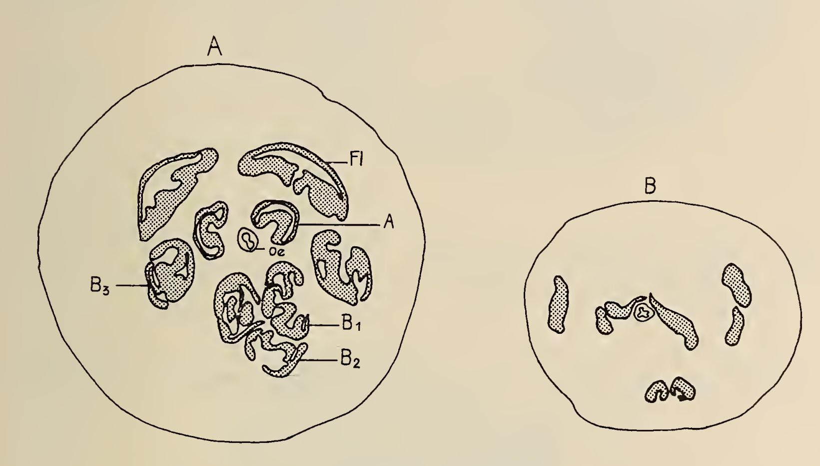


Abb. 11.
Querschnitt durch normale (A) und letale (B) Imaginalscheiben 96 h alter Larven. Fl Flügelscheibe, A Augenscheibe, B_1-B_3 erste, zweite und dritte Beinscheibe, Oe Oesophagus. Vergr. 75 mal.

Die Speicheldrüsen der *l 8*-Larven sind nicht nur kleiner (Tab. 7), sondern auch in ihrem histologischen Aufbau verschieden von den normalen. Die Struktur der Zellkerne erscheint lockerer, und da auch das Lumen des letalen Drüsenkörpers weiter ist, weisen die *l 8*-Zellen nicht die für +/—Tiere charakteristische, gegen das Zentrum hin sich verjüngende Form auf.

Darmtraktus und Malpighische Gefässe sind normal entwickelt. Der Mitteldarm weist einen gut ausgebildeten Stäbchensaum auf. In vivo können die Malpighi manchamal weniger intensiv gelbgefärbt sein, als beim normalen Genotyp.

Die Muskulatur der *l 8*-Larven ist ziemlich stark reduziert, weist aber eine normale Querstreifung auf. Die Kerne enthalten

im Gegensatz zur Mutante *letal-polymorph* (*lpm*, *Benz* 1957) keine pyknotischen Einschlüsse.

In den Imaginalscheiben sind keine histologischen Abnormitäten sichtbar, doch sind sie bedeutend kleiner als normal (Tab. 6 und Abb. 11), und nur in wenigen Fällen leicht gefaltet.

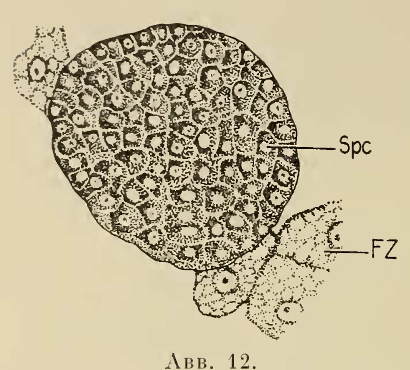


Abb. 12.
Hoden einer 96-stündigen normalen Larve. Querschnitt. Spc Spermatocyten, FZ Fettzelle. Vergr. 285 mal.

Die Hauptzellen der Ringdrüse sind im Vergleich zu normalen Ringdrüsen etwas verkleinert. Der strukturelle Aufbau scheint aber nicht verändert zu sein.

Wie schon bei der äusseren Untersuchung auffällt (S. 432), ist der Fettkörper der *l 8*-Larven stark vermindert. Histogolisch unterscheiden sich die einzelnen Fettzellen nur durch ihre etwas verringerte Grösse von normalen Zellen.

Die letalen Hoden weisen verschiedene Grade von Degenerationserscheinungen auf. Abb. 12 zeigt den Schnitt durch einen

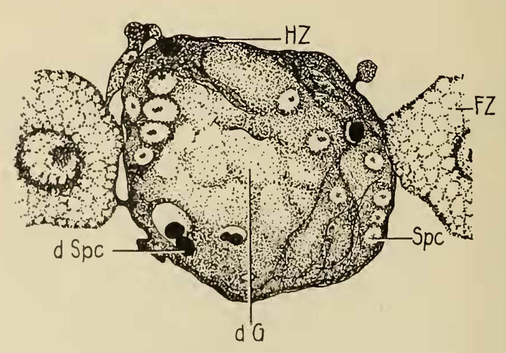


Abb. 13.
Hoden einer 96-stündigen letalen Larve. Querschnitt. Spc Spermatocyten, dSpc degenerierte Spermatocyten, dG degeneriertes schwammiges Gewebe, HZ Hüllenzelle, FZ Fettzelle. Vergr. 822 mal.

normalen verpuppungsreifen Hoden, auf dem deutlich die grossen Spermatocyten (Spc) zu erkennen sind. Der Schnitt durch eine

gleich alte letale Gonade (Abb. 13) zeigt bereits weit fortgeschrittene Degenerationserscheinungen. Am Rande sind neben degenerierten Zellen noch einige normale Spermatocyten und Hüllenzellen (HZ) zu erkennen. In der Mitte aber ist die Struktur des Gewebes undeutlich und schwamming und hat sich an einzelnen Stellen schon vollständig aufgelöst.

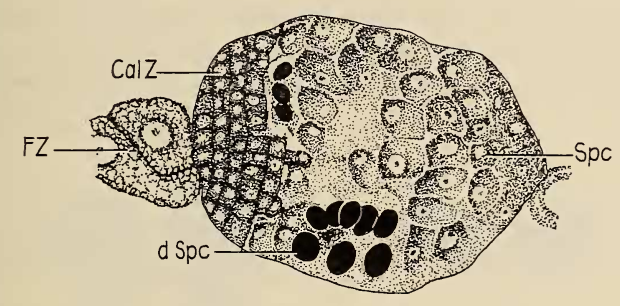


Abb. 14.

Hoden einer 72-stündigen letalen Larve. Querschnitt. Spc Spermatocyten, dSpc degenerierte Spermatocyten, CalZ Calotten-Zellen, FZ Fettzelle. Vergr. 822 mal.

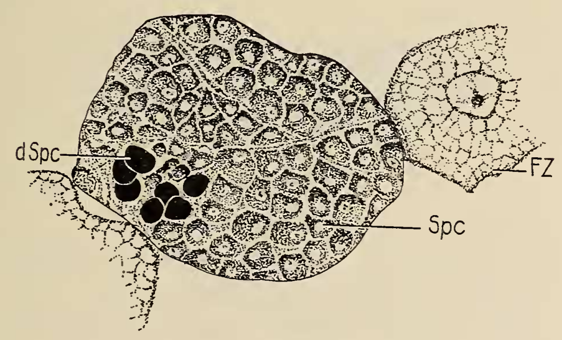


Abb. 15.

Hoden einer 120-stündigen letalen Larve. Querschnitt. Spc Spermatocyten, dSpc degenerierte Spermatocyten, FZ Fettzelle. Vergr. 822 mal.

Schon zu Beginn des dritten Larvenstadiums (Abb. 14) können die ersten degenerierten Keimzellen in den letalen Hoden beobachtet werden. Der Zellverband ist aber in allen Fällen noch kompakt. Abb. 14 zeigt neben degenerierten und normalen Spermatocyten auf der „linken" Seite der Gonade die von Gloor (1943) beschriebenen Calottenzellen, die normal ausgebildet sind. Das

Ausmass der Degenerationserscheinungen kann bei den Tieren aus ein und derselben Zuchtschale sehr stark variieren. So zeigt zum Beispiel Abb. 15 die Gonade eines 120 h alten Tieres. Im Gegensatz zur Larve in Abb. 13 sind hier erst wenige pyknotische Zellen festzustellen, und die abgestorbenen Spermatocyten haben sich noch nicht aufgelöst.

Die Lymphdrüsen (Abb. 16) sind in den letalen *l* 8-Larven schon 96 h nach der Eiablage stark vergrössert und der Gewebeverband beginnt sich in vereinzelten Fällen schon aufzulösen. Gewisse

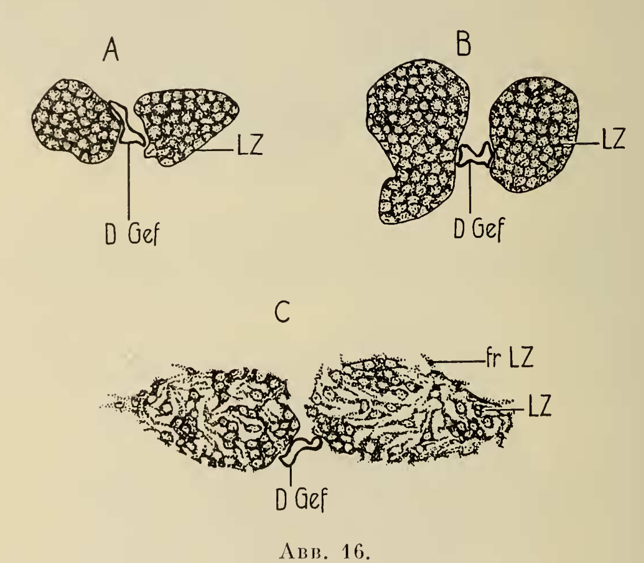


Abb. 16.

Querschnitt durch die Lymphdrüsen einer 96-stündigen normalen (A), einer 96-stündigen letalen (B) und einer 120-stündigen letalen (C) Larve. LZ Lymphzellen, DGef Dorsalgefässe, frLZ freie Lymphzellen. Vergr. 280 mal.

Degenerations- und Auflösungserscheinungen konnte jedoch Shatoury (1955) auch für normale Lymphdrüsen des späten dritten Larvenstadiums feststellen. Beim Sezieren von normalen und letalen Larven in physiologischer Lösung zeigte es sich, dass die starke Grössenzunahme der Lymphdrüsen in den überlebenden *l* 8-Larven mit einer Auflösung der festen Form des Organs verbunden ist. In Abb. 16 ist der Schnitt durch eine solche 120 h alte Lymphdrüse wiedergegeben.

Ausser der fast dreifachen Vergrösserung des Volumens fällt vor allem der lockere Bau und das Austreten freigewordener Lymphzellen auf. Hämolympheausstriche ergaben auch bei alten letalen Larven eine vermehrte Zahl von Podocyten (vgl. WALKER 1959).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Wirkung des Letalfaktors *l 8* vor allem die Gonaden, Lymphdrüsen, Speicheldrüsen, den Fettkörper und die Muskulatur betrifft. Auf der Muskulatur- und Fettkörperreduktion beruht auch die verminderte Körpergrösse (S. 432).

4. PHYSIOLOGISCHE PHÄNE

a) *Verhalten der Gesamtmenge ninhydrinpositiver Stoffe im Laufe der Entwicklung*

Ein sicheres Unterscheiden der *l 8*- und *M5*-Männchen ist erst im 2. Larvenstadium möglich, daher wurden die ersten Bestimmungen an 48 h alten Larven vorgenommen. Alle späteren Messungen wurden in Abständen von je 24 h ausgeführt.

Die auf eindimensionalen Chromatogrammen bestimmte Gesamtmenge ninhydrinpositiver Stoffe (Technik S. 412) wurde sowohl pro Individuum (Abb. 17), wie auch pro mg Frischgewicht (Abb. 18) berechnet.

α). *Gesamtmenge pro Tier (Abb. 17).*

Am Anfang des 2. Larvenstadiums unterscheiden sich die letalen *l 8* und die normalen Larven kaum (Abb. 17). Wie wir bereits für *l 52* (Abb. 5) feststellten, steigt in den Kontrollen die Menge der ninhydrinpositiven Stoffe bis zum Alter von 96 h stark an und nimmt gegen die Verpuppung hin wieder leicht ab. Die letalen Larven zeigen während des 2. Larvenstadiums eine nur geringe Zunahme. Mit einer Verzögerung von wiederum 24 h gegenüber dem Wildstamm (vgl. Körperwachstum und Gewichtszunahme S. 432) erfolgt anschliessend ein starker Anstieg, der 120 h nach der Eiablage ein Maximum erreicht, das die Höchstwerte der Kontrollen deutlich übertrifft. Die in der nachfolgenden Zeit des Überlebens eintretende Abnahme ist sehr ausgeprägt, so dass am 10. Tage, kurz vor dem Tode der letalen Larven, beinahe wieder die Werte von 72 h erreicht werden.

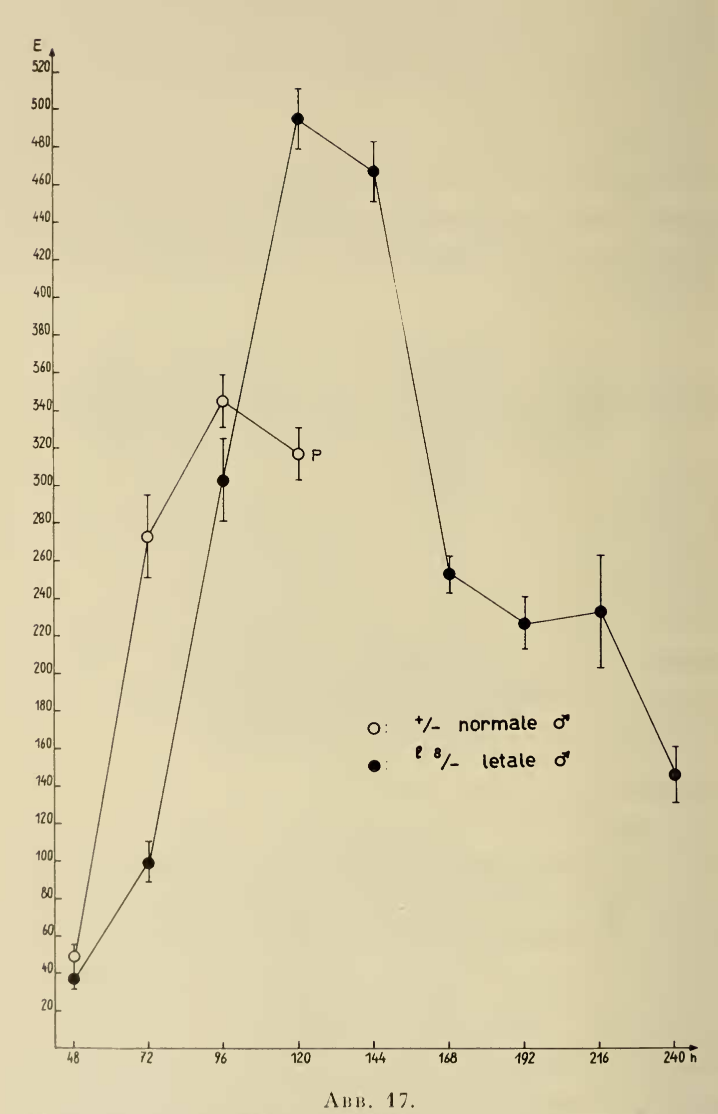


Abb. 17.

Verlauf der Gesamtmenge der freien Aminosäuren und Peptide für +/— und *l 8*-Tiere bezogen auf eine Larve. Die einzelnen Punkte entsprechen den Mittelwerten aus je 8-10 Einzelbestimmungen, deren Streuung in der Kurve angegeben ist. P Zeitpunkt der Pupariumbildung. Abszisse: Alter der Tiere in h ab Eiablage (25° C); Ordinate: Extinktiwerte ×1000.

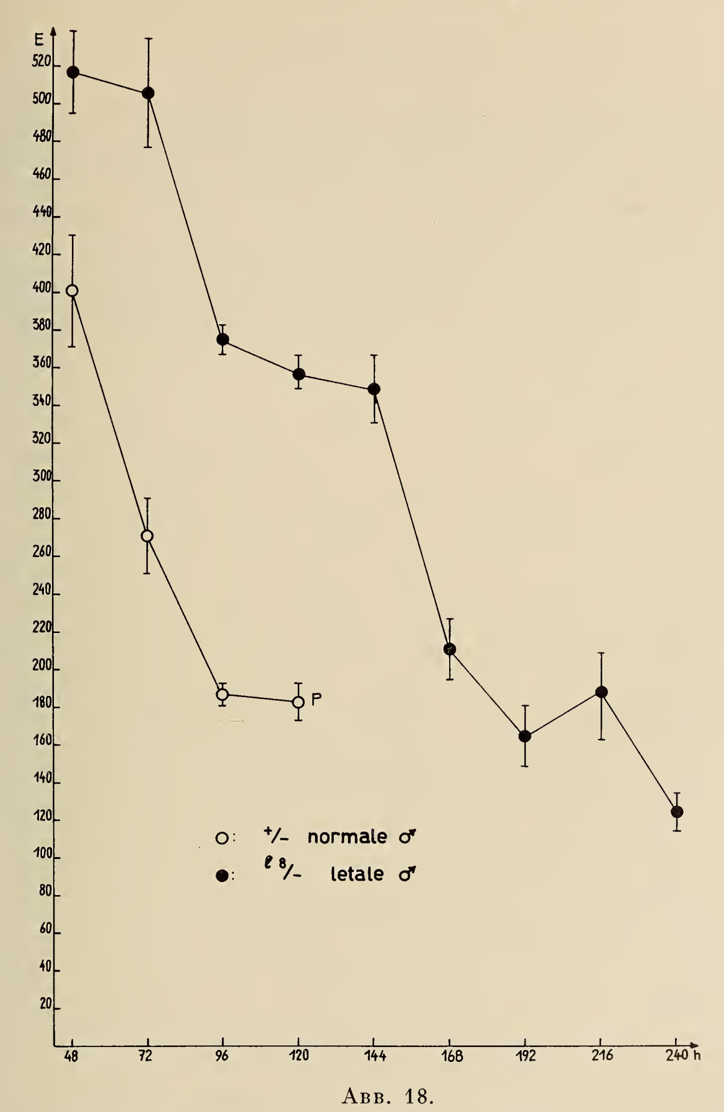


ABB. 18.

Verlauf der Gesamtmenge der freien Aminosäuren und Peptide für +/— und *l 8* pro mg Frischgewicht. Bezeichnungen gleich wie Abb. 17.

β) Gesamtmenge in bezug auf 1 mg Frischgewicht (Abb. 18).

Wie erwartet liegen die Werte der letalen Tiere (Abb. 18) in diesem Falle wesentlich höher als die der Kontrollen, da bereits die Gewichtskurven (Abb. 9) für die einzelnen Entwicklungsstadien

Tabelle 10.

Übersichtstabelle zu den Aminosäuren- und Peptidkurven von +/— und l 8 Tieren. Dabei ist angegeben ob im 2. (L II) und 3. (L III) Larvenstadium die Quantität der betreffenden Substanz in den beiden Genotypen die selbe sei (=), oder ob die l 8 Tiere mehr (+) oder weniger (—) davon enthalten. In der Kolonne Maximum/Höhe ist eingetragen, ob das Maximum in den l 8 Larven höher (+) oder niedriger (—) liegt als in den Kontrollen (die 2 Zeichen bei Glycin und β-Alanin bedeuten eine zweigipflige Kurve, Abb. 19 h und m). Aus der Kolonne Maximum/Zeit ist ersichtlich um wie viele Stunden das Maximum verfrüht (—) oder verspätet (+) erreicht wird.

Substanz	Quantität		Maximum	
	L II	L III	Höhe	Zeit
Leucin	=	—	=	+24
Valin	=	—	=	+24
Peptid 2	=	—	—	=
Peptid 3	=	—	—	+24
Arginin	=	—	—	+48
α-Alanin	=	—	+	+48
Threonin	=	—	+	+48
Asparaginsäure	—	=	+	+48
Histidin	+	—	+	+48
γ-Aminobuttersäure	=	—	+	+48
Prolin	=	—	+	+48
Glutamin	—	—	+	+48
Peptid 4	+	+	+	+48
Peptid 1	=	+	+	+48
Glycin	+	—	+/+	+48/+96
Tyrosin	=	+	+	=
Glutaminsäure	+	—	+	+24
Lysin	=	=	+	+24
Serin	+	+	+	+72
Cystin	=	+	+	+96
β-Alanin	=	+	—/+	—24/+48

deutliche Unterschiede zeigen. Die Letalkurve verläuft jedoch annähernd parallel zur Normalkurve. Die Wachstumsverzögerung wird hier weniger deutlich sichtbar. Sie lässt sich aber dennoch an der geringen Abnahme der *l 8*-Werte zwischen 48 und 72 h nachweisen. Dass die Gesamtmenge der freien Aminosäuren und Peptide in bezug auf das Frischgewicht mit zunehmendem Alter der letalen Larven immer mehr abnehmen muss, geht aus einem Vergleich der Abb. 9 und 17 hervor.

b) *Veränderung der Eiweissbausteine in der Mutante*

Es stellt sich nun die Frage, ob an der vermehrten Gesamtmenge ninhydrinpositiver Stoffe in den letalen *l 8*-Larven alle Komponenten gleichermassen beteiligt sind. Vergleichende papierchromatographische Untersuchungen der einzelnen Stadien des Normal-Stames („ *Sevelen* “) und der Letalen ergaben einen Einblick in die quantitative Verteilung der einzelnen Eiweissbausteine. Erfasst wurden ausser einigen in höherer Konzentration vorkommenden Peptiden die meisten Aminosäuren und das Glutamin (Tab. 10). Einige Substanzen, wie Phenylalanin und Tryptophan, wurden wegen der geringen Menge nicht berücksichtigt (Technik S. 412). Das qualitative Stoffmuster der +/— und *l 8*-Larven, wie auch die quantitative Verteilung in den Kontrollen entsprechen weitgehend den von FAULHABER (1959) für *lgl/Cy* angegebenen Aminosäuren und Peptiden. Die erhöhte Konzentration ninhydrinpositiver Stoffe kann somit in den letalen Tieren nur auf einer relativen Zunahme der einzelnen Aminosäuren und Peptide beruhen.

Es zeigte sich nun, dass nicht alle Eiweissbausteine gleich stark vermehrt im Körperextrakt auftreten. Nur zwei Aminosäuren, Valin und Leucin, weisen im Vergleich zu den Kontrollen quantitativ keinen Unterschied auf (Tab. 10). Im mittleren zweiten und anfangs des dritten Stadiums enthalten die normalen und letalen Larven gleich viel Leucin (Abb. 19a). Dann aber erfolgt in den +/— Larven ein steiler Anstieg, während in den *l 8*-Tieren die Konzentration nur gering zunimmt. Erst in den nun folgenden 24 h steigt auch in den Letalen der Leucingehalt stark an und erreicht denselben Wert wie die Kontrollen. In der nachfolgenden Zeit des Überlebens der *l 8*-Larven zeigt die Kurve des Leucins nach einem ausgeprägten Abfall noch einmal einen geringen Anstieg zwischen 144 und 168 h, der aber wegen der starken Streuung des Materials nicht gesichert ist. Nachher nehmen die Werte bis zum Tode der Tiere ab. Auch Prolin zeigt dieselbe Verzögerung um 24 h bis zur Erreichung des Kontrollwertes (Tab. 10).

Arginin und die Peptide 2 und 3 erreichen in den letale Larven nie die Werte der Kontrolltiere (Tab. 10). Einzig beim Peptide 2 (Abb. 19b) fällt zeitlich für die Letalen und Kontrollen das Maximum zusammen, beträgt bei *l 8* aber nur etwas mehr als die Hälfte des normalen. Im Gegensatz zum Peptid 2 weist der Kurvenver-

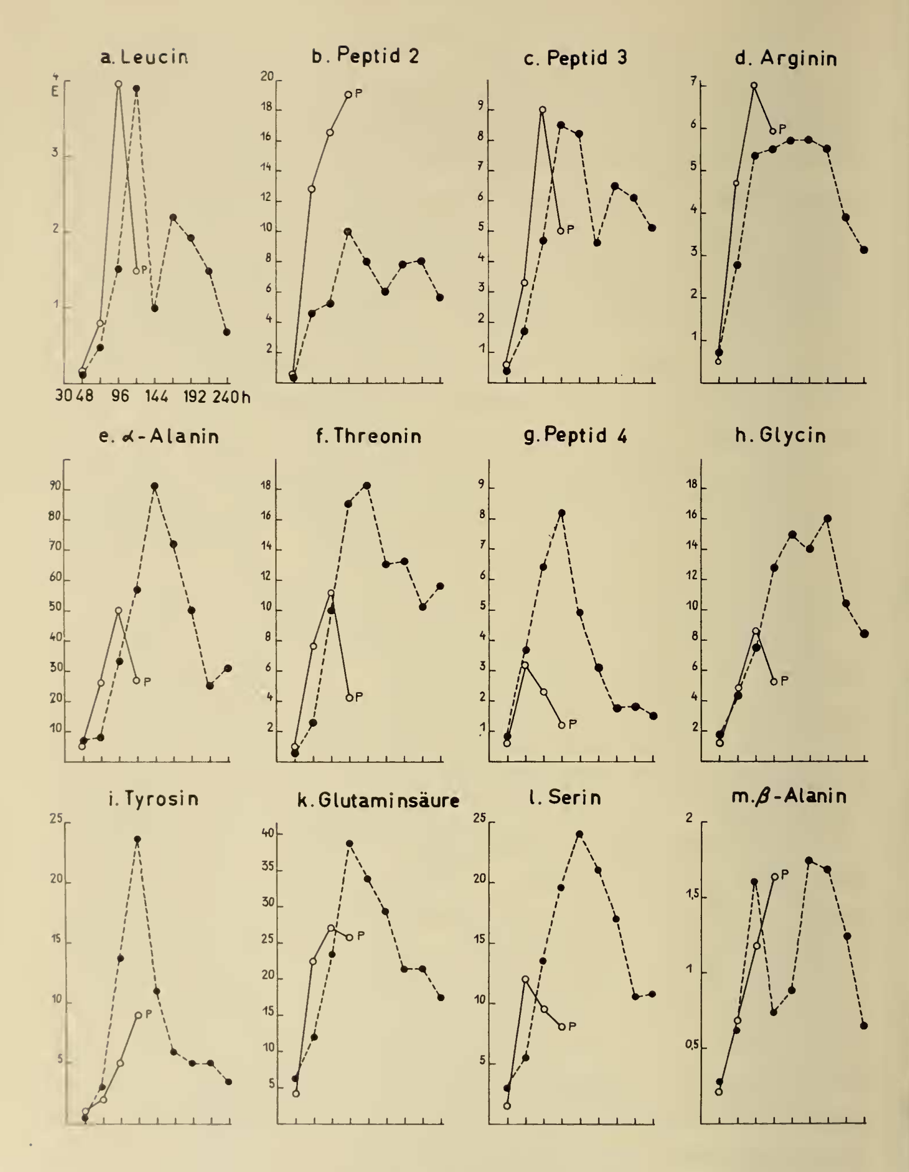


Abb. 19.

a-m. Kurven verschiedener Eiweissbausteine die während der Entwicklung der +/— Tiere (——) und *l 8*-Tiere (- - - - -) Unterschiede aufweisen. Abszisse: Alter der Tiere in h ab Eiablage (25° C); Ordinate: Extinktionswerte × 1000. Die Mittelwerte wurden aus je 6-8 Einzelbestimmungen berechnet. P Zeitpunkt der Pupariumbildung.

lauf des Peptides 3 eine deutliche Verschiebung um 24 h gegenüber den normalen Werten auf (Abb. 19c). Das Maximum liegt nur wenig unter dem der +/— Tiere. Der Abbau ist in den darauffolgenden 24 h nur gering und setzt erst deutlich bei den 144 h alten Larven ein. Aehnlich verhält sich das Arginin (Abb. 19d), nur bleibt hier der maximale Wert über mehrere Tage erhalten und die Kurve fällt erst 2 Tage vor dem Tode der Larven ab.

Die Mehrheit der Aminosäuren sowie auch die Peptide 1 und 4 erreichen aber in den letalen Tieren zum Teil wesentlich höhere Werte als im Kontrollstamm. In den meisten Fällen, so bei α-Alanin, Threonin, Asparaginsäure, Histidin, γ-Aminobuttersäure, Prolin, Glutamin und den Peptiden 1 und 4 liegt das Maximum der Werte 48 h später als in den +/— Larven (Tab. 10). In Abb. 19 e-g sind als Beispiele die Kurven für α-Alanin, Threonin und das Peptid 4 angegeben. α-Alanin und Threonin zeigen wieder die für die ersten Entwicklungstage typische Verschiebung der Kurve um 24 h. Einzig beim Peptid 4, das wahrscheinlich auch noch Asparagin enthält, liegen die Werte der letalen Tiere durchwegs höher als die der Kontrollen. Die Unterschiede sind jedoch für 48 and 72 h nicht gesichert.

Der Kurvenverlauf des Glycins weist zwei Maxima auf (Abb. 19h). Das erste liegt wie bei der vorhergehenden Gruppe 48 h nach dem der Kontrollen, das zweite bei 192 h. Der Unterschied zu den tieferliegenden Werten von 168 h ist jedoch nicht gesichert.

Auch die restlichen untersuchten Aminosäuren Tyrosin (Abb. 19i), Glutaminsäure (Abb. 19k), Lysin, Serin, (Abb. 19 l), Cystin und β-Alanin (Abb. 19m) weisen das gemeinsame Merkmal einer erhöhten Konzentration auf, nur werden hier die Maxima zu verschiedenen Zeitpunkten erreicht.

Tabelle 10 zeigt, dass schon im 2. Larvenstadium für Asparaginsäure, Histidin, Glutamin, Glycin, Glutaminsäure, Serin und das Peptid 4 geringfügige Unterschiede zwischen normalen und letalen Larven nachweisbar sind. Die grossen Differenzen treten aber erst im 3. Larvenstadium zwischen den verpuppungsreifen normalen und den 120 h alten letalen Larven auf, die physiologisch gleich alt sind. Bis auf Leucin und Prolin sind alle Aminosäuren, zum Teil in sehr ausgeprägtem Masse, vermehrt. Im Gegensatz zur Letalmutante *letal-translucida (ltr)* (HADORN und STUMM-ZOLLINGER 1953) aber nimmt die Menge an freien Amino-

säuren und Peptiden in den *l 8*-Larven nach dem 5. — 6. Tage, von der Eiablage an gerechnet, bis zum Tode der Tiere wieder stetig ab.

5. Transplantationsversuche

Gonaden: In einer ersten Versuchsserie (Tabl 11) implantierten wir Hoden aus 90 h alten Tieren in 72 stündige normale Wirtslarven. Nach der Metamorphose des Wirtes konnten von den 22 letalen Implantaten nur noch 9 gefunden werden; davon 5 als schwarze Restkörper. In den restlichen 4 Fällen aber metamorphosierten die letalen Hoden im normalen Wirt zu adulten Organen, deren Grösse jedoch sehr wesentlich hinter den Implantaten aus

Tabelle 11.

Transplantation von normalen (+/—) und letalen (l 8) larvalen Hoden in normale Wirtslarven von 72 h.

Implantat	n	Wirt	Transplantationserfolg		
			Imaginaler Hoden	Restkörper	kein Implantat gefunden
Hoden +/— 90 h	12	+/— 72 h	11	1	—
Hoden *l 8* 90 h	22	+/— 72 h	4 sehr klein	5	13
Hoden +/— 72 h	10	+/— 72 h	10	—	—
Hoden *l 8* 72 h	35	+/— 72 h	6 sehr klein z.T. Fusion	10	19

+/— Larven zurückbleibt. Es entwickeln sich höchstens sehr kleine Bläschen, in denen aber nie reife Spermien gebildet werden. In einer zweiten Versuchsserie wurden an Stelle der 90 h alten Gonaden Hoden aus letalen Larven des frühen 3. Stadiums (72 h) transplantiert. Die Ergebnisse sind in Tab. 11 wiedergegeben. In den Kontrollversuchen konnte in allen operierten Tieren die implantierte Gonadenanlage als metamorphosierter Hoden wiedergefunden werden. Aus den transplantierten larvalen Hoden der *l 8*-Tiere

entwickelte sich in keinem Falle ein Hoden von der Grösse des Wildstammes. Von den 6 nach der Metamorphose des Wirtes noch erhaltenen letalen Implantaten waren zwei mit den normalen Gonaden des Wirtes fusioniert; konnten aber noch als deutlich sichtbare Anschwellungen an den Spitzen der spiralisierten +/— Hoden erkannt werden. Danach scheint sich der Letalfaktor ausser in einigen Hüllzellen, die sich zu imaginal pigmentierten Zellen weiter zu entwickeln vermögen, im Hodengewebe autonom auszuwirken.

Imaginalscheiben: Wie schon aus den Längen- und Breitenmessungen (vgl. Tab. 6) hervorgeht, beträgt die Grösse der letalen Imaginalscheiben nur die Hälfte der physiologisch gleich alten aus normalen +/— Larven; zudem fehlt die typische Reliefbildung weitgehend. Transplantationsversuche sollten nun abklären, in welchem Masse diese Wachstums- und Differenzierungsverzögerung durch eine direkte, autonome Wirkung des Faktors *l 8* im Anlagesystem selbst bedingt ist, oder ob hier nur ein schädigender Einfluss des letalen Milieus vorliegt. Es wurden letale Augen-, Bein- und Flügelscheiben aus 72 h alten Larven herausseziert und in gleich alte +/— Wirtslarven implantiert. Nach der Metamorphose der Wirtstiere konnten in 80% der Fälle normal entwickelte imaginale Organe gefunden werden. Dass es sich um keinen Irrtum in der Versuchsanordnung handeln kann, und an Stelle der letalen Imaginalscheiben etwa die Anlagen aus den gleich alten *M5*/-Tieren transplantiert wurden, beweist das in allen implantierten Augen normal ausgebildete rote Pigment. Somit ist das ungenügende Wachstum und die geringe Differenzierung der Imaginalscheiben nicht auf eine irreparable Wirkung des Letalfaktors zurückzuführen, sondern als sekundäre Folge des gestörten Stoffwechsels im umgebenden letalen Milieu aufzufassen.

Ringdrüse: Nur in ganz wenigen Fällen (S. 430) bilden die überlebenden letalen Larven zwischen dem 8. und 10. Tage nach der Eiablage ein langgestrecktes Puparium, eine sog. Pseudopuppe (HADORN 1937). Der Kopf und die übrigen Imaginalanlagen werden in keinem Falle ausgestülpt.

Wie HADORN (1937) zeigte, wird das für die Verpuppung verantwortliche Hormon bei *Drosophila* in der Ringdrüse gebildet. Transplantiert man Ringdrüsen verpuppungsreifer, normaler Lar-

ven in die letalen Tiere des Stammes *lgl (lethal giant larvae)*, so setzt nach einigen Stunden die Pupariumbildung ein (Hadorn 1937). Eine Unterfunktion der Ringdrüse kommt auch beim Faktor *l 8* als Ursache der nur seltenen und dann sehr späten Ausbildung

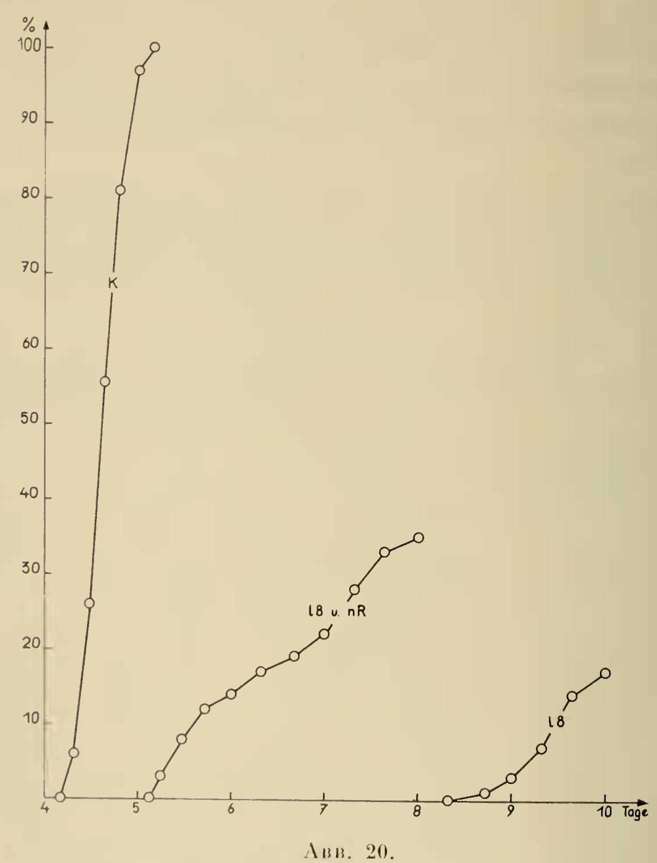


Abb. 20.

Pupariumbildung normaler und letaler Larven. Auf der Ordinate ist in Prozenten der Anteil der Indivdiuen angegeben, die zu dem auf der Abszisse bezeichneten Zeitpunkte die Bildung des Pupariums vollendet haben. K Kontrollen (nach Hadorn 1955 für n = 154); *l 8* u nR *l 8*-Tiere mit implantierter normaler Ringdrüse (n = 120); *l 8 l 8*-Tiere ohne implantierte Ringdrüse (n = 195).

eines Pupariums in Frage. Durch Transplantationen normaler Ringdrüsen aus verpuppungsreifen Larven versuchten wir daher auch bei diesem Genotypus eine höhere Verpuppungsrate zu erhalten. Abb. 20 zeigt die Verpuppungszahlen letaler Larven mit

und ohne implantierte Ringdrüse, und als Kontrollen den Wildstamm „*Sevelen*". Die Anzahl der gebildeten Pseudopuppen ist bei den letalen Tieren mit Ringdrüsen-Implantat doppelt so gross als bei den unbehandelten *l 8*-Larven; zudem werden nach der Implantation normaler Ringdrüsen die Puppenhüllen viel früher gebildet. Im Gegensatz zu *lgl* wird der Erfolg aber erst nach 24-48 h sichtbar. In keiner der Versuchsserien, die in Abb. 20 zusammengefasst sind, konnte eine Verpuppungsrate über 35% erreicht werden. Die restlichen 65% der operierten *l 8*-Tiere lebten noch einige Tage als Larven weiter und starben, wie die nicht behandelten Larven, zwischen dem 9. und 10. Tage nach der Eiablage. Kein Tier aus der Implantationsserie entwickelte sich über das Pseudopuppenstadium hinaus.

6. Diskussion der Ergebnisse

a) *Zu den morphologischen Phänen.*

Die Wirkung des Faktors *l 8* wird in einer Wachstumsverzögerung von mindestens 24 h gegenüber den Kontrollen sichtbar. Ausser der Körperlänge vermag nur der Darmtraktus diesen Rückstand aufzuholen. Alle übrigen Organsysteme stellen ihr Wachstum 96 h nach der Eiablage ein (Tab. 5, 6, 7). Da die Grössenzunahme der histologisch normal gebauten Imaginalscheiben nur gering ist, kann auch die normalerweise im dritten Larvenstadium auftretende Faltung der Scheiben nicht erwartet werden. Die Wachstumshemmung ist aber in den Imaginalscheiben, wie die Transplantationsversuche zeigten (S. 451), nicht autonom, sondern indirekt durch die geschädigte Umgebung bedingt.

Anders verhält es sich in den letalen Gonaden. Schon 72 h nach der Eiablage treten hier die ersten Degenerationserscheinungen auf. Die Spermatocyten sterben ab und lösen sich auf (Abb. 13-15), sodass schon 24 h später im Innern einzelner Hoden keine feste Struktur mehr beobachtet werden kann. Die Randzellen werden dabei erst später betroffen. Daher lassen die letalen Hoden beim Sezieren äusserlich noch keine sichtbaren Veränderungen erkennen und zeigen nur im Innern zum Teil etwas hellere Stellen. Die grosse Variabilität im Ausmass der Degenerationserscheinungen innerhalb einer Zuchtschale erklärt auch die Unter-

schiede in den Ergebnissen der Transplantationsversuche (S. 450). In den wenigen Fällen, da die letalen Hoden im normalen Wirt bis nach der Metamorphose erhalten bleiben und sich zu kleinen Bläschen entwickeln, handelt es sich wohl um Implantate, die im letalen Milieu noch nicht alle weiteren Entwicklungspotenzen eingebüsst haben. Ungeklärt bleibt aber, ob die letalen Gonaden im Transplantat wegen der autonomen Wirkung des Faktors *l 8* nicht zu normal entwickelten Hoden mit reifen Spermien heranwachsen, oder ob sie schon vor der Transplantation so sehr geschädigt waren, dass im normalen Wirt diese Veränderungen nicht wieder rückgängig gemacht werden können.

Die Untersuchungen an den Speicheldrüsen ergaben, dass bereits im Embryonalstadium der Letalfaktor *l 8* in die Entwicklung eingreift und die Anlage dieses Organsystems hemmend beeinflusst. Nach dem Schlüpfen des Larven fanden in den Speicheldrüsen nur noch intranukleare Chromatidenteilungen statt, die zur Polytaenie führen und gleichzeitig auch eine Vergrösserung des Kernvolumens bewirken. Die Chromosomen der *l 8*-Tiere erreichen nie den hohen Polytaeniegrad der normalen. Dieser Unterschied in den Kernvolumina (Tab. 9) erklärt auch die ungenügende Entwicklung des ganzen Drüsenkörpers. Wird aber durch niedere Zuchttemperatur die Embryonalentwicklung der letalen Larven künstlich verlängert, so steigt auch in den Speicheldrüsen der *l 8*-Tiere die Zellzahl. Die Zunahme ist aber etwas geringer als in den Kontrollen (Tab. 8). Vielleicht wirkt hier der Faktor *l 8* verzögernd auf die Mitosevorgänge in der Speicheldrüsenanlage. Es ist nun möglich, dass sich in der nachfolgenden larvalen Entwicklung durch ein längeres Einwirken des Letalfaktors diese hemmenden Einflüsse verstärken und auch die intranuklearen Chromatidenteilungen beeinflussen.

Das Anschwellen und Auflösen der Lymphdrüsen letaler Larven nach dem 4. Entwicklungstage führt zu der Zunahme melanotischer Pseudotumoren. Auch in den normalen Larven zeigen die Lymphdrüsen am Ende des 3. Larvenstadiums gewisse Degenerations- und Auflösungserscheinungen (Shatoury 1955), dies aber ohne wesentliche Grössenzunahme. In den *l 8*-Tieren aber vergrössert sich das Volumen um ein Vielfaches und der Drüsenkörper beginnt in viele Teile zu zerfallen. Kleinere Gruppen oder einzelne Lymphzellen, die sich losgelöst haben, schwimmen nun frei in der

Hämolymphe herum (Barigozzi et al. 1958). Dort ballen sie sich zusammen und lagern Melanin ein. Da dieser Prozess in den letalen Larven 96 h nach der Eiablage einsetzt, ist es nicht weiter erstaunlich, dass wir erst in den älteren überlebenden Larven melanotische Pseudotumoren antreffen.

b) *Zu den Transplantationen normaler Ringdrüsen.*

Die Transplantationsversuche von normalen Ringdrüsen in 96 h alte letale Larven haben gezeigt, dass dadurch die Rate der Pupariumbildung sehr wesentlich verbessert werden kann. Nach diesen Untersuchungen lässt sich jedoch noch nicht entscheiden, ob die Bildung des Puparisierungshormons vollständig unterbleibt, oder nur sehr stark vermindert ist. Das Auftreten vereinzelter Pseudopuppen am Ende der Überlebensperiode spricht für die Annahme einer veminderten Hormonproduktion. In diesem Falle würde in den letalen Ringdrüsen das Hormon nur in so geringer Menge gebildet, dass erst nach längerer Zeit (d. h. am 9.—10. Tage des Überlebens) in einzelnen Larven der für die Bildung eines Pupariums notwendige Schwellenwert überschritten wird. Es steht jedoch fest, dass die mangelnde Hormonproduktion nicht eines der Hauptphäne des Letalfaktors *l 8* sein kann, da trotz Transplantation normaler Ringdrüsen die letalen Larven sich nie über das Pseudopuppenstadium hinaus entwickeln. Es scheint viel mehr das Reaktionssystem selbst betroffen zu sein.

c) *Zu den physiologischen Phänen*

Ein Vergleich der für *l 8* erhaltenen Befunde über die Veränderungen der Gesamtmenge ninhydrinpositiver Stoffe mit den beiden Letalmutanten *lme* und *ltr* zeight, dass hier ein anderes Schädigungsmuster vorliegt. Konnten Schmid (1949) und Chen und Hadorn (1955) für *lme* aufzeigen, dass die Verdauung der Eiweisse verunmöglicht ist, so ist bei der Mutante *ltr* der Aufbau der körpereigenen Einweisse gestört (Hadorn und Stumm-Zollinger 1953 und Stumm-Zollinger 1954). Bei der Mutante *l 8* sind die Ergebnisse schwieriger zu interpretieren. Trotz der erhöhten Menge ninhydrinpositiver Stoffe tritt keine vermehrte Flüssigkeitsmenge in den Larven auf, wie sie die überlebenden *ltr*-Tiere aufweisen. Wenn der Überschuss an freien Aminosäuren nur die Folge

einer ungenügenden Proteinsynthese ist, sollten im Körperextrakt der *l 8*-und *ltr*-(Stumm-Zollinger 1954) Larven dieselben Eiweissbausteine vermehrt auftreten. Dies trifft nun auch für Glutamin, Lysin, Glycin, Serin und Threonin zu, nur dass in den *l 8* Tieren zudem auch noch Cystin, Tyrosin, α-Alanin, Histidin, γ-Aminobuttersäure, Prolin, das Peptid 1 und Glutaminsäure in stark vermehrter Konzentration auftreten. Von den in *ltr* nur schwach vertretenen Stoffen α-Alanin, Prolin, Peptide 1 und 2 ist bei den *l 8*-Larven nur das Peptid 2 stark vermindert. In ihrer Konzentration wenig herabgesetzt sind Arginin und das Peptid 3. Die stark erhöhte Konzentration des α-Alanins weist auf eine Aehnlichkeit mit der Letalmutante *l(1)7* (Lewis 1954) hin.

Bei den älteren letalen Larven scheint die Eiweissynthese immer mehr reduziert zu werden. Für diese Annahme spricht die stark abfallende Gesamtmenge der ninhydrinpositiven Stoffe. Wahrscheinlich ist die Nahrungsaufnahme der überlebenden *l 8* Larven nur noch gering und so müssen die Tiere einen grossen Teil ihrer Energie aus den im Körper gespeicherten freien Aminosäuren und Peptide beziehen, da auch der Fettkörper überall nur sehr schwach entwickelt ist.

Doch ist eine vollständige Deutung der verschiedenen physiologischen Phäne sehr schwierig, und es lässt sich vorläufig noch nicht sagen, ob diese Stoffwechselstörungen primärer oder sekundärer Natur sind. Es sind noch genauere Untersuchungen, auch der Veränderungen im Proteingehalt während des Überlebens, notwendig, um deutlicheren Einblick in die Wirkungsweise des Letalfaktors *l 8* zu erhalten.

7. Zusammenfassung

a) *Der Faktor l 52*

1. Für den Faktor *l 52* wurde ein Locus rechts von *Bar* berechnet. Auf den Speicheldrüsenpräparaten konnte für diese Region eine Verminderung des Chromosomenmaterials beobachtet werden. Die Crossingover-Häufigkeit längs des letalen X-Chromosoms weist eine abnormale Verteilung auf.

2. Der Faktor *l 52* wirkt bereits embryonal, indem er ein verspätetes Schlüpfen der Larven bedingt. Die Hauptwirkungsphase

und Letalkrise liegt jedoch im zweiten Larvenstadium. Durchbrenner wurden keine beobachtet.

3. Körperwachstum und Gewichtszunahme der *l 52*-Tiere sind stark verzögert.

4. Histologische Veränderungen finden sich vor allem im Gehirn und Unterschlundganglion, sowie in den Hoden und Imaginalscheiben.

5. Die Zahl der Speicheldrüsenkerne ist vermehrt.

6. Bei normalen und letalen Larven wurde der Gehalt an freien Aminosäuren und Peptiden bestimmt. Ausser einer Verzögerung in der Zunahme bei *l 52* konnten keine wesentlichen Unterschiede beobachtet werden.

7. Die Nahrungsaufnahme wird durch den Faktor *l 52* nicht betroffen, doch sind eventuell Abbau und Aufnahme durch die Darmwand beeinträchtigt.

8. Im Transplantationsversuch zeigten Hoden und Imaginalscheiben autonome Letalität.

b) *Der Faktor l 8*

1. Der Faktor *l 8* liegt im Bereich von 1-20,0—23,6.

2. Die *l 8*-Tiere überleben als Larven des dritten Stadiums bis zum 10. Tage nach der Eiablage. Selten werden Pseudopuppen gebildet.

3. In den überlebenden letalen Larven treten mit zunehmendem Alter melanotische Pseudotumoren auf.

4. Längenwachstum und Gewichtszunahme weisen in den *l 8*-Tieren eine Verzögerung um 24 h im Vergleich zu den Kontrollen auf.

5. Die morphologischen Veränderung der einzelnen Organsysteme wurden untersucht. Das Wachstum wird ausser im Darmtraktus überall 96 h nach der Eiablage eingestellt.

6. Die einzelnen Organe wurden histologisch untersucht. Verschiedene Grade von Degenerationserscheinungen konnten in den larvalen Hoden beobachtet werden.

7. Die Lymphdrüsen weisen mit zunehmendem Alter der letalen Larven Auflösungserscheinungen auf.

8. Der Proteinstoffwechsel der Mutante ist deutlich verändert. Die Konzentration der freien Aminosäuren und Peptide ist wesentlich erhöht. Die einzelnen Verbindungen sind ungleich stark an dieser Zunahme beteiligt. Das Stoffinventar selbst ist aber qualitativ nicht verändert.

9. Die Imaginalscheiben zeigen im Transplantationsversuch keine autonome Zell-Letalität; sie entwickeln sich zu normalen Augen, Beinen und Flügeln. Dagegen setzt sich im transplanteriten larvalen Hoden eine autonome Letalität durch.

10. Durch Transplantation normaler Ringdrüsen konnte in einer grösseren Prozentzahl der letalen Larven eine Puparisierung bewirkt werden, ohne jedoch eine Metamorphose auszulösen.

Résumé

a) *Facteur l 52*

1. Le facteur létal *l 52* est localisé à droite du facteur *Bar*. Les chromosomes des glandes salivaires montrent un rétrécissement dans cette région. La fréquence des crossing-over le long du chromosome x létal présente une distribution anormale.

2. Le facteur *l 52* agit dès le stade embryonnaire et provoque un retard de l'éclosion, mais la crise létale se produit au 2e stade larvaire qu'aucun individu ne franchit.

3. La croissance en longueur et en poids est fortement réduite.

4. Les modifications histologiques sont surtout marquées dans les testicules et les disques imaginaux.

5. Le nombre des noyaux est augmenté dans les glandes salivaires.

6. Il n'a pas été observé d'anomalie dans la teneur en acides aminés libres et en peptides, en dehors d'un retard dans leur formation.

7. Le facteur *l 52* ne modifie pas l'appétit mais influe parfois sur l'assimilation au niveau de la paroi intestinale.

8. Transplantés sur individus normaux, les testicules et les disques imaginaux ont montré une létalité propre.

b) *Facteur l 8*

1. Il se situe entre 20.0 et 23.6.

2. Les larves porteuses de *l 8* atteignent le 3e stade et survivent jusqu'à 10 jours après l'éclosion. Elles atteignent rarement le stade de pseudopupe.

3. Celles qui survivent le plus longtemps, présentent des pseudotumeurs mélaniques.

4. La croissance en longueur et en poids sont retardés de 24 h. en comparaison des témoins.

5. Le tube digestif peut se développer jusqu'à 120 h., mais la croissance générale s'arrête 96 h. après l'éclosion.

6. L'examen histologique révèle divers degrés de dégénérescence dans les testicules larvaires.

7. Les glandes lymphatiques présentent une dégénérescence progressive.

8. Le métabolisme des proteines est modifié quantitativement mais non qualitativement. La concentration des acides aminés libres et des peptides est notablement accrue, mais elle diffère selon les composants.

9. Les disques imaginaux ne présentent pas de létalité propre, transplantés, ils se développent en pattes, ailes et yeux normaux. Le testicule au contraire est frappé de létalité.

10. Par transplantation de glandes annulaires normales sur larves létales, on a pu obtenir la pupaison dans un certain nombre de cas mais jamais la métamorphose.

Summary

a) *Factor l 52*

1. The factor *l 52* was calculated to be to the right of *Bar*. A narrowing of the chromosomal material could be observed from salivary gland preparations. The crossing-over frequency was found to have an abnormal distribution along the lethal X-chromosome.

2. The action of *l 52* begins in the embryonic stage as demonstrated by the larva's late hatching from the egg. However, the

primary lethal crisis is in the second larval instar. Survivors beyond this stage are never observed.

3. Body growth and weight increase of *l 52*-animals is markedly reduced.

4. Histological changes are found primarily in the central nervous system. Further changes are noted in the testes and imaginal discs.

5. The number of salivary gland nuclei is increased.

6. *l 52*-larvae have a smaller amount of total free amino acids and peptides on the first day after hatching, but this amount later reaches levels equivalent to wild type second instar larvae and remains there throughout life. No qualitative differences were detected between the lethal and wild type strains.

7. Testes and imaginal discs show autonomous lethality as demonstrated through transplantation experiments.

b) *Factor l* 52

1. The factor *l 8* lies between 20.0 and 23.6 on the X-chromosome.

2. *l 8*-animals survive through the third instar for up to 10 days of age. Rarely are pseudopupae formed.

3. In the surviving lethal larvae melanotic pseudotumors appear with old age.

4. Growth in length and weight increase of *l 8*-animals throughout larval development was shown to be 24 hours slower than the controls.

5. The intestinal tract reaches normal proportions at 120 hours after hatching, but growth of all other organs ceases at 96 hours.

6. Different degrees of degeneration could be observed in the lethal larval testes.

7. The lymph glands show more degenerative changes with increased age of the lethal larvae.

8. There is no qualitative change in free amino acids and peptides from that of wild type, but there is a marked increase in the

quantitative content of all of them. However, this increase is not equivalent for all the different substances.

9. The imaginal discs show no autonomous cell lethality in transplantation experiments; development of eyes, wings and legs is normal. On the other hand, an autonomous lethality can be demonstrated for transplanted larval testes.

10. Through transplantation of normal ring glands a larger percentage of lethal larvae could be carried through to pupal formation, but metamorphosis did not occur.

LITERATURVERZEICHNIS

AUCLAIR, J. L. et R. DUBREUIL. 1953. *Etude sur les aminés libres de l'hémolymphe des insectes par la méthode de chromatographie sur papier filtre.* Canad. J. Zool. 31: 30.

BARIGOZZI, C., M. C. CASTIGLIONI and A. DI PASQUALE. 1958. *Morphogenesis of Melanotic Tumours (pseudotumours) and its Genetical control, in three Wild Stocks of D. melanogaster.* Exper. XIV/12: 443.

BENZ, G. 1955. *Quantitative Veränderungen der Aminosäuren und Polypeptide während der Entwicklung von Drosophila melanogaster.* Arch. Jul. Klaus-Stiftg. 30: 498.

— 1957. *Untersuchungen über die Wirkung der Letalfaktoren letalbluter (lbl) und letal-polymorph (lpm) von Drosophila melanogaster.* Z. indukt. Abstamm.-u. Vererb.-Lehre 88: 78.

BOISSONNAS, R. A. 1950. *Dosage colométrique des aminés séparés par chromatographie sur papier.* Helv. Chim. Acta 33: 1975.

BRUSH, M. K., R. K. BOUTWELL, A. D. BARTON and C. HEIDELBERGER. 1951. *Destruction of amino acids during filter paper chromatography.* Science 113: 2923.

CHEN, P. S. und E. HADORN. 1954. *Vergleichende Untersuchungen über die freien Aminosäuren in der larvalen Haemolymphe von Drosophila, Ephestia und Coretra.* Rev. Suisse Zool. 61: 437.

EPHRUSSI, B. and G. W. BEADLE. 1946. *A technique of transplantation for Drosophila.* Amer. Naturalist 70: 218.

FAULHABER, I. 1959. *Biochemische Untersuchungen zum Eiweiss-Stoffwechsel der Letalmutante lethal giant larvae (lgl) von Drosophila melanogaster.* Z. Vererb.-Lehre 90: 299.

Gloor, H. 1943. *Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Gonaden einer Letalrasse (lgl) von Drosophila melanogaster*. Rev. Suisse Zool. 50: 339.

— 1945. *Zur Entwicklungsphysiologie und Genetik des Letalfaktors crc bei Drosophila melanogaster*. Arch. Jul. Klaus-Stiftg. 20: 209.

— und P. S. Chen. 1950. *Über ein Analorgan bei Drosophila-Larven*. Rev. Suisse Zool. 57: 26.

Grob, H. 1946. *Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen der Letalrasse lgl von Drosophila melanogaster*. Arch. Jul. Klaus-Stiftg. 21: 342.

— 1952. *Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen, dem Darmtraktus und den Imaginalscheiben einer Letalrasse (lgl) von Drosophila melanogaster*. Z. Vererb.-Lehre 84: 320.

Hadorn, E. 1937. *An accelerating effect of normal „ring-glands" on puparium formation in lethal larvae of Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 23: 478.

— 1948. *Gene action in growth and differenciation of lethal mutants of Drosophila*. Symp. Soc. exp. Biol. Cambridge 2: 177.

— 1955. *Letalfaktoren*. Stuttgart.

— und P. S. Chen. 1955. *Zur Stoffwechselphysiologie der Mutante lme von Drosophila melanogaster*. Rev. Suisse Zool. 62: 2.

— and H. K. Mitchell. 1951. *Properties of mutants of Drosophila melanogaster and changes during development as revealed by paper chromatography*. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 37: 650.

— und E. Stumm-Zollinger. 1953. *Untersuchungen zur biochemischen Auswirkung der Mutante „letal-translucida" (ltr) von Drosophila melanogaster*. Rev. Suisse Zool. 60: 506.

Kerkis, J. 1931. *The growth of the gonads in Drosophila melanogaster*. Genetics 16: 212.

Lewis, H. W. 1954. *Studies on a melanoma-producing lethal in Drosophila*. J. exp. Zool. 126: 235.

Rizki, M. T. M. 1952. *Ontogenetic distribution of genetic lethality in Drosophila willistoni*. Genetics 37: 619.

Schmid, W. 1949. *Analyse der letalen Wirkung des Faktors lme (letal-meander) von Drosophila melanogaster*. Z. Vererb.-Lehre 83: 220.

Shatoury, H. H. E. 1955. *The structure of the lymph glands of Drosophila larvae*. Roux'Archiv für Entwicklungsmechanik 147: 489.

Sonnenblick, B. 1940. *The salivary glands in the embryo of Drosophila melanogaster*. Genetics 25: 137.

Strasburger, M. 1932. *Bau, Funktion und Variabilität des Darmtractus von Drosophila melanogaster Meigen*. Z.wiss.Zool. 140: 539.

STUMM-ZOLLINGER, E. 1954. *Vergleichende Analyse der Aminosäuren und Peptide in der Hämolymphe des Wildtyps und der Mutante „letal-translucida" (ltr) von Drosophila melanogaster.* Z. indukt. Abstamm.-u. Vererb.-Lehre 86: 126.

WALKER, I. 1959. *Die Abwehrreaktion des Wirtes Drosophila melanogaster gegen die zoophage Cynipide Pseudeucoila bochei Weld.* Rev. Suisse Zool. 66: 27.